BAND 22, HEFT 3 NOVEMBER 1954

# PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

*Unter Mitwirkung von*

Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Braunschweig, Prof. Dr. K. O. Müller-Canberra, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

*herausgegeben von*

Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner
Braunschweig

Prof. Dr. E. Gäumann
Zürich

Prof. Dr. M. Klinkowski
Aschersleben

Mit 66 Abbildungen

1954

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

*Phytopath. Z. Bd. 22,* Heft 3, *S. 233—344, Berlin 1954*

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
26 NOV 1954

# INHALT

**Abhandlungen**


STOLL, CH., Über Stoffwechsel und biologisch wirksame Stoffe von *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Woll., dem Erreger der Bakanaëkrankheit. Mit 19 Abb. ..... 233

CORBETTA, G., Il „Carbone" del *Panicum crus-galli* e *Panicum erectum* prodotto da *Sorosporium bullatum* Schroet. 6 Figure ..... 275

NAEF-ROTH, ST. und REUSSER, P., Über die Wirkung der Fusarinsäure auf den Gaswechsel von Tomaten-Blattgewebe. Mit 5 Abb. ..... 281

GASSNER, G. und NIEMANN, E., Symptome der Steinbranderkrankung (*Tilletia*) bei Weizen und Roggen. Mit 12 Abb. ..... 288

HOESER, K., Untersuchungen über die physiologische Spezialisierung des Weizenschwarzrostes ..... 301

MÜLLER, H. und SCHUHMANN, G., Untersuchungen über die Ursachen von Beizfehlschlägen bei der Bekämpfung des Weizensteinbrandes (*Tilletia tritici* [Bjerk] Winter). Mit 3 Abb. ..... 305

BRUHIN, A. und WANNER, H., Über die Wirkung von Insektiziden auf die Mitose von Pflanzen. Mit 17 Abb. und 4 Darstellungen ..... 327

**Besprechungen** ..... 343


---


**Manuskripte:** In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.
„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.
Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

**Schriftleitung:** Prof. Dr. Dr. h. c. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1, Professor Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, und Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52.
Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.
Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

**Honorierung:** Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die drei ersten Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei.
Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

**Sonderdrucke:** Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

**Erscheinungsweise:** Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 6 bis 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

**Bezugsbedingungen:** Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.


---


**Abonnementspreis dieses Heftes 21,40 DM** **Einzelpreis 23,60 DM**

*Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich*
*Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann*

# Über Stoffwechsel und biologisch wirksame Stoffe von *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Woll., dem Erreger der Bakanaëkrankheit

Von

CHRISTIAN STOLL

*Mit 19 Abbildungen*

Inhalt. Allgemeiner Teil: I. Einleitung. — II. Literatur. — III. Problemstellung. — Experimenteller Teil: I. Herkunft und Beschreibung des Pilzmaterials. — II. Infektionsversuche an Reispflanzen. — III. Kulturversuche. 1. Methoden und Apparate, a) Kulturgefäße, Nährmedien und pH-Werte, b) Impfmaterial, c) Kulturart, d) Testmethoden auf biologisch wirksame Stoffe; 2. Variierung der Kulturbedingungen; 3. Aktive Kulturfiltrate und ihre biologisch wirksamen Stoffe, a) Gibberellinhaltige Extrakte, b) Fusarinsäure, c) Vasinfuscarin, d) Dehydrofusarinsäure. — IV. Untersuchungen des Stoffwechsels. 1. Methode für Bestimmungen, a) Myzelgewicht, b) Glukose, c) Nitrate, d) Phosphate, e) Chloride; 2. Myzelgewicht, Aktivität, pH-Wert im Zusammenhang mit dem Verbrauch der Glukose, Nitrate, Phosphate und Chloride aus der Nährlösung. — Diskussion — Zusammenfassung — Literatur.

## Allgemeiner Teil

### I. Einleitung

Der Pilz *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Woll. ist als Erreger der vor allem in Japan auftretenden Bakanaëkrankheit bekannt.

Generell wird unter dem Ausdruck „Bakanaë"-Effekt im pathologischen Sinne die Erscheinung des beschleunigten Wachstums von Reiskeimlingen unter dem Einfluß von *Gibberella fujikuroi* verstanden.

SETO (1935) bewies jedoch, daß der Pilz nicht nur diesen wachstumsbeschleunigenden Effekt an jungen Reispflanzen, sondern, unter gewissen Bedingungen und vor allem bei großer Trockenheit, auch ein entgegengesetztes Bild, nämlich das einer Wachstumshemmung hervorrufen kann. Im weiteren vermag der Pilz in äußerlich gesunden Pflanzen zu

parasitieren, ohne irgendwelche Krankheitssymptome zu bewirken. Solche Pflanzen, in denen der Pilz wohl aggressiv, nicht aber pathogen ist, werden als symptomlose Träger der Bakanaëkrankheit bezeichnet.

Der diese Biomorphose hervorrufende Pilz kann die Wirtspflanze am Korn, Halm, an der Ähre oder Wurzel befallen.

Die Krankheit tritt meistens bei relativ hohen Bodentemperaturen (bis zu 32° C) auf. Äußerlich ist im Anfangsstadium kein Erreger nachweisbar. Typische Symptome der später an „Bakanaë" erkrankten Pflanzen sind ihre längeren und schmäleren Blätter und Halme; die befallenen Pflanzen überragen die gesunden erheblich.

Auf Grund von saprophytischen Kulturen des Pilzes gelang es den Japanern YABUTA, KAMBE und HAYASHI (1934), als erstes pflanzliches Toxin die Fusarinsäure, $C_{10}H_{13}NO_2$, aus der Kulturlösung rein darzustellen. Diese, das Reiswachstum hemmende Substanz, konnte auch bei *Fusarium lycopersici* Sacc., dem Erreger der Tomatenwelke, isoliert werden (GÄUMANN, NAEF und KOBEL, 1952 a, b, c). Außerdem fanden YABUTA und HAYASHI (1939) das Gibberellin A, $C_{22}H_{26}O_7$, welches bei Reiskeimlingen anomale Längenzunahme des Sprosses und Wachstumshemmung der Wurzeln bewirkt.

Die Tatsache des verschiedenartigen Wirkungsspektrums des Parasiten und das gleichzeitige Auftreten von verschiedenen pflanzlichen Toxinen bildeten den Anlaß zur Ausführung der vorliegenden Arbeit.

Herrn Prof. Dr. E. GÄUMANN möchte ich für seinen wertvollen Rat, seine großzügige Hilfe und die Ermöglichung meiner Untersuchungen herzlich danken.

Mein Dank geht auch an die Herren Dr. J. RENZ, chemisches Laboratorium der SANDOZ AG, Basel, und Herrn Dr. A. BOLLER, Basel, für die chemische Bearbeitung und Isolierung der aktiven Stoffe.

Weiter danke ich Frl. H. WAGNER und Frl. M. SENNHAUSER, am Institut für spezielle Botanik an der E.T.H., für ihre Hilfe bei der Durchführung der zahlreichen Teste und Bestimmungen.

## II. Literatur

Die Angaben über *Gibberella fujikuroi* finden sich mit wenigen Ausnahmen in japanischen Publikationen, denen nur ein kurzes englisches Resumé angefügt ist.

Unter dem Sammeltitel „Biochemical studies of Bakanaë fungus on rice" ist uns bis heute eine Serie von 30 Arbeiten zugänglich (YABUTA und HAYASHI 1939, 1940 a, YABUTA et al. 1934, 1939, 1940, 1941 a, b, c, d, e, f, 1943 a, b, c, 1951 a, b, c, YABUTA und SUMIKI 1942, 1944, HAYASHI 1940 a, b, TAMARI 1948, TAMARI und MORINO 1948, YATAZAWA und SUMIKI 1952, SUMIKI 1952, SETA und SUMIKI 1952, KAWARADA et al. 1953, HAYASHI et al. 1953 und HAYASHI und MURAKAMI 1953 a, b).

In diesen Mitteilungen werden die chemischen und physiologischen Eigenschaften von Stoffen beschrieben, die aus dem Pilz anfallen.

Die Chemie der Fusarinsäure, 4n-Butyl-pikolinsäure, ist bekannt. Durch Decarboxylierung der Fusarinsäure wurde das Fusarinin gefunden.

Die Chemie des stickstofffreien Gibberellins, einer hocharomatischen Verbindung, ist in der Strukturformel, soweit uns bekannt, noch nicht geklärt. Aus dem Grundelement, der Gibberinsäure $C_{19}H_{22}O_3$ wurden Gibberellin A $C_{22}H_{26}O_7$, Gibberellin B $C_{22}H_{28}O_8$, sowie weitere Derivate dargestellt.

Die physiologische Wirkung der Fusarinsäure bei Reispflanzen besteht in der bereits erwähnten Wachstumshemmung. Ihre Eigenschaften als Welketoxin haben GÄUMANN et al. 1952 a, b, c beschrieben.

Außer der bekannten physiologischen Wirkung des Gibberellins bei Reiskeimlingen sind aus den japanischen Arbeiten u. a. folgende Eigenschaften bekannt:

1. Längenzunahme auch bei anderen Pflanzen, vor allem bei *Paulownia tomentosa* (bis 190 %). Der Längeneffekt tritt mehr bei embryonalen als bei älteren Zellen auf.

2. Steigerung des Amylasegehaltes bei Gerste- und Weizenkeimlingen.

3. Steigerung des Vitamin-C-Gehaltes bei Sojabohnen (bis 30 %).

4. Nicht mitosefördernd.

5. Keine Auxinwirkung, da alle Auxinteste, auch der Avenakoleoptilentest, negativ ansprechen.

6. Keine Veränderung des Wassergehaltes, der Asche und des Gesamt-Stickstoffs bei Reispflanzen.

Über physiologische und pflanzenpathologische Untersuchungen an *Gibberella fujikuroi* berichten NISHIKADO und HIROYOSHI 1953, NISHIKADO et al. 1933 a, b, 1934, NISHIKADO und KIMURA 1939, NISHIKADO und MIYAWAKI 1944. Danach ruft der Pilz an Maiskeimlingen einen ausgeprägteren Bakanaëeffekt als bei Reis hervor. Auch beschreiben die Autoren den Pilz als mit *Fusarium moniliforme* Sheld. identisch.

## III. Problemstellung

1. Die Bildung der biologisch wirksamen Stoffe kann durch das Substrat gesteuert werden. *Gibberella fujikuroi* bildet in vitro auf glukosehaltigen Nährmedien ein oder mehrere Welketoxine. Auf glyzerinhaltigen Nährmedien scheidet der Pilz den welketoxisch inaktiven Stoff Gibberellin ins Kulturfiltrat ab. Diese Tatsache gibt Anlaß zu einer Untersuchung des Kohlenhydrathaushaltes.

2. Nachdem erwiesen ist, daß das stickstofffreie Gibberellin die Längenzunahme der Reispflanzen beschleunigt, die

stickstoffhaltige Fusarinsäure jedoch die Pflanzen hemmt und sie zum Absterben bringen kann, soll auch eine Überprüfung der biologischen Wirksamkeit von Kulturfiltraten im Zusammenhang mit dem Stickstoffhaushalt durchgeführt werden.

3. Weshalb bildet der gleiche Mikroorganismus bei vermutlich gleichen Ernährungs- und anderen Bedingungen durch den Wirt so verschiedenartige Stoffe, die bald die Wirtspflanzen zur Streckung, bald gleiche Wirtspflanzen zur Verkümmerung bringen können?

## Experimenteller Teil

### I. Herkunft und Beschreibung des Pilzmaterials

Wie aus der Literatur hervorgeht, werden als Erreger der Bakanaëkrankheit außer *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Woll. auch *Fusarium heterosporum* Nees. und *Fusarium moniliforme* Sheld. beschrieben. Gewisse Autoren stellen *Fusarium moniliforme* und *Gibberella fujikuroi* einerseits (NISHIKADO et al., 1934), *Fusarium heterosporum* und *Gibberella fujikuroi* anderseits (YABUTA et al., versch. Arbeiten), als identische Pilze dar.

Wie weit diese Identität morphologisch zutrifft, ist, soweit bekannt, nicht eindeutig festgelegt. WOLLENWEBER und REINKING 1935 klassifizieren in der Fusarienmonographie die drei Pilze an drei verschiedenen Stellen. Physiologisch und pflanzenpathologisch scheinen die Pilze jedoch gleiches Verhalten aufzuweisen, und da die vorliegenden Untersuchungen nur derartige Eigenschaften behandeln, wurde hier von einer Überprüfung der morphologischen Identität Abstand genommen.

Bei Beginn der Arbeit standen aus der Mykothek des Institutes für spezielle Botanik an der E.T.H von nebenstehenden Stämmen Schrägagarreinkulturen zur Verfügung.

| Stamm-Nr. E. T. H. | Wirtspflanze: | Provenienz: |
|---|---|---|
| 4877 | Zuckerrohr | unbekannt |
| 6061 | Zuckerrohr | unbekannt |
| 6062 | Mais | unbekannt |
| 6063 | Reis | unbekannt |
| M 6 | unbekannt | C. B. S., Baarn |
| M 7 | unbekannt | C. B. S., Baarn |

Diese Stämme waren seit mehreren Jahren nur in vitro kultiviert worden und hatten demzufolge ihre Virulenz stark eingebüßt bzw. verloren. Prof. Dr. Y. SUMIKI, Direktor des Institutes für organische Chemie an der Faculty of agriculture, Universität Tokio, dem ich für die Überlassung von Pilzmaterial und Reinsubstanz an dieser Stelle herzlich danken möchte, ist der Ansicht, daß *Gibberella fujikuroi*-Stämme nach drei- bis sechsmonatiger in vitro-Kultur ihre biologische Aktivität verloren haben.

Im Sommer 1952 kamen unserer Mykothek neue Stämme zu, teils bereits als Schrägagarkulturen, teils auf befallenen Reiskörnern.

Schließlich erhielten wir von Prof. SUMIKI im Herbst 1953 den aus Reis isolierten Stamm E.T.H. Nr. M 82.

Der eine Teil der Hauptversuche wurde mit Stamm M 43, der andere, größere Teil, mit Stamm M 82 durchgeführt. Äußerlich unterscheiden sich die beiden Stämme deutlich durch die starke blaurote Mycelfarbe von M 43 und die weißgelbe Mycelfarbe bei M 82.

| Stamm-Nr. E. T. H. | Wirtspflanze: | Provenienz: |
|---|---|---|
| M 43 | unbekannt | C. B. S., Baarn |
| M 46 | Reis (?) | C. B. S., Baarn |
| M 47 | Reis | College of Agriculture, Benara Hindu University |
| M 48 | Reis | Prof. CIFERRI, Pavia |
| M 49 | Reis | Istituto di patologia vegetale, Milano |
| M 52 | Reis | Agr. Res. Sta., Coimbatore, Indien |

## II. Infektionsversuche an Reispflanzen

Zur Reaktivierung der Stämme wurde versucht, eine Wirtspassage auf Reispflanzen durchzuführen.

Versuch Nr. 1

16 zylindrische, glasierte Tontöpfe (Durchmesser 21 cm, Höhe 20 cm, zwei seitlich angebrachte Luftlöcher) wurden mit „dampfsteriler" Erde gefüllt und in jeden Topf je 40 Reiskörner der Sorte *Rinaldo Bersani* ausgesät. Bei einer Temperatur von 25 bis 34 ° C und normaler Bodenfeuchtigkeit erreichten 50 % der Pflanzen nach einer Woche das Einblattstadium bei einer Länge von etwa 8 bis 10 cm.

In vier Serien beimpften wir zu diesem Zeitpunkt je vier Töpfe wie folgt und überschwemmten die Erde anschließend mit Brunnenwasser:

Serie A: Mit einer normalen Recordinjektionsspritze injizierte man 3 bis 4 cm über Bodenhöhe etwa 0,1 bis 0,2 ml einer Sporensuspension des Stammes M 43 in den Halm der Testpflanzen. Das Sporenmaterial konnte aus einer zehn Tage alten, auf Reisnährboden (geschälter Reis und Brunnenwasser in 500-ml-Erlenmeyerkolben, im Dampfautoklaven bei 120 ° C 20 Minuten sterilisiert) bei 27 ° gewachsenen Kultur nach Zentrifugation einer wässerigen Suspension gewonnen werden.

Serie B: Die Pflanzen wurden ausgetopft, in die Sporensuspension getaucht und sofort wieder eingesetzt.

Serie C: Die Sporensuspension wurde auf die Pflanzen zerstäubt.

Serie D: Eine Reis-Erlenmeyerkultur gaben wir nach Zerkleinerung im „Turmix"-Rührwerk ins Wasser und überschwemmten mit diesem die Reispflanzen.

Zu allen vier Serien liefen parallele Kontrollen bei gleichem Vorgehen, jedoch mit Brunnenwasser.

Die Wirkung der vier Infektionsarten nach acht Tagen war die folgende:

Serie A: Kleine Nekrosen bei den Einstichstellen, bei infizierten und Kontrollpflanzen; keine Krankheitssymptome.

Serie B: Keine Krankheitssymptome.

Serie C: Rotbraune Flecken auf den Blattunterseiten, jedoch nicht als Konidienlager, Sporodochien (SETO 1935), identifizierbar. Der mikroskopische Befund ergab Myzel in Halmen und Blättern, Konidien wurden nicht beobachtet. Die Versuchsdauer dürfte wohl für die Konidienbildung nicht ausgereicht haben. Da infolge der im Gewächshaus herrschenden, für Reis ungünstigen klimatischen Bedingungen die Reispflanzen wegen zu schwacher Halmbildung zu knicken drohten, mußte der Versuch schon nach so kurzer Zeit ausgewertet werden.

Serie D: Die infizierten Pflanzen wiesen eine mittlere totale Länge (Stengel + Blätter) von 45 cm, die Kontrollen eine solche von 28 cm auf. Es mußte geprüft werden, ob sich diese Längenzunahme um 34 % auf die Infektion durch *Gibberella fujikuroi* zurückführen ließ:

Aus fünf Pflanzen wurden je fünf Halm- und Blattstücke eine Minute in 1 ‰ Sublimatlösung getaucht, 10 bis 15 Minuten in sterilem Wasser gewaschen und jedes Stück für sich in Malz-Schrägagarröhrchen (2 % Malzextrakt „Wander", 2 % Agar) gegeben. Nach wenigen Tagen Inkubation bei 27 ° C wuchs aus den Blatt- und Halmstücken Myzel von *Gibberella fujikuroi*. Somit darf die Längenzunahme der infizierten Reispflanzen auf den durch *Gibberella fujikuroi* hervorgerufenen Bakanaë-Effekt zurückgeführt werden.

Kulturversuche und Aktivitätsteste, wie sie in einem weiteren Teil der Arbeit beschrieben sind, zeigten jedoch keinen Unterschied in der biologischen Wirksamkeit bei Stamm M 43 vor und nach der Wirtspassage.

Versuch Nr. 2

Sämtliche Stämme, exkl. den damals noch ausstehenden Stamm M 82, wurden 25 Tage bei 27 ° C in Glaxokulturgefäßen auf Reisnährboden nach Beimpfung mit Myzelstücken aus Schrägagarkulturen inkubiert. Alle Kulturen hatten in dieser Zeit reichlich Myzel und Sporen gebildet. Durch Zugabe von je 100 ml sterilem Brunnenwasser wurden die Sporen suspendiert und anschließend durch sterile Watte filtriert.

In jede der Suspensionen gab man je 100 in Sublimat gebeizte und in sterilem Wasser gewaschene Reiskörner, beließ sie eine Stunde darin und legte anschließend die Reiskörner auf von den Sporensuspensionen durchtränkte Watte aus.

Bei 24 ° C keimten die Versuchspflanzen innerhalb vier Tagen zu einer Länge von 1 cm aus. Anschließend wuchsen sie bei 36 ° Raum- und Bodentemperatur und 100 % relativer Feuchtigkeit in steriler Erde.

Außer den mit Stamm M 43 infizierten Reispflanzen — sie zeigten den gleichen Effekt wie Versuch Nr. 1 — waren keine gegenüber Kontrollen merklich verschiedene Pflanzen zu finden.

Die Rückisolierung des Pilzes aus Teilen von Reishalmen und -blättern erfolgte wie bei Versuch Nr. 1.

Positive Resultate ergaben die Stämme M 7, M 43, M 52 und 6061. Kulturversuche und Aktivitätsprüfungen zeigten auch hier keine Unterschiede bei den Stämmen, vor und nach der in vivo-Kultur.

Die negativen Ergebnisse von Versuch 1 und 2 müssen auf die zu kurze Dauer der Wirtspassagen zurückgeführt werden.

## III. Kulturversuche

### 1. Methoden und Apparate

a) Kulturgefäße, Nährmedien und ihre pH-Werte

Als Kulturgefäße eignen sich für *Gibberella fujikuroi* Glaxo-Gefäße, die bei einer Nährlösungsmenge von 500 ml eine Nährlösungstiefe von 2,5 cm aufweisen und 500-ml-Erlenmeyerkolben aus Murano-, Jenaer- oder Pyrexglas, die bei einem Nährmediumvolumen von 100 ml eine Nährlösungstiefe von 2 cm ergeben.

Die Tiefe des Nährmediums im Kulturgefäß ist bei Standkulturen von großer Wichtigkeit. Durch den wachsenden Mikroorganismus bilden sich in der Nährlösung chemisch verschiedene Schichten in verschiedenen „Tiefen". Unter der Myzeldecke entstehen nährstoffärmere und exkretreichere Schichten, so daß das Myzel nur durch Diffusion mit frischen Nährstoffen versorgt werden kann (Foster 1949).

Glaxokulturgefäße dürften außerdem die $CO_2$-Stauung über der Myzeldecke fördern. Da $CO_2$ schwerer als $O_2$ ist, wird somit die Sauerstoffversorgung des Pilzes in Frage gestellt. Glaxokolben besitzen in bezug auf die Nährlösungsoberfläche eine etwa dreimal kleinere Öffnung für den Gasaustausch als Erlenmeyerkolben.

Eine zu große Kompaktheit der zum keimfreien Gasaustausch notwendigen Wattebäusche kann ebenfalls zu einer $CO_2$-Stauung im Kulturgefäß führen (Foster 1949). Bei einem Versuch sollten alle Kulturgefäße möglichst aus gleichem Glas beschaffen sein, da dieses in der Lage ist, Ionen in die Nährlösung abzugeben (Wikén 1946).

Im ganzen kamen vier verschiedene Nährlösungen zur Anwendung:

1. $Ri_5$ = Richard-Nährlösung mit 5 % Glukose: Ammonnitrat 1 %, primäres Kaliumphosphat 0,5 %, Magnesiumsulfat 0,25 %, Ferrichlorid 0,002 %.

2. $C_4$ = CZAPEK-Nährlösung mit 4 % Glukose: Natriumnitrat 0,3 %, primäres Kaliumphosphat 0,1 %, Magnesiumsulfat 0,05 %, Kaliumchlorid 0,05 %, Ferrosulfat 0,001 %.

Zu einem Teil meiner Versuche wurde mit gutem Erfolg 0,1 % Trockensubstanz eines im Dampfautoklaven durch Wasserextraktion aus roher, unentfetteter Verbandwatte gewonnenen, dunkelbraunen Extraktes zur CZAPEK-Nährlösung gegeben. Die $C_4$-Nährlösung ist in diesen Fällen mit $CW_4$ bezeichnet. ETTLINGER (1946) hatte gefunden, daß Zugaben eines wässerigen Extraktes aus roher Verbandwatte zu Penicillin-Kulturen wuchsstoffartige Wirkung hatte. SCHOPFER und RYTZ (1937) hatten einen solchen Wuchsstoff in der Watte nachgewiesen.

3. YABUTA-Nährlösung mit 3 % Glyzerin: Ammonchlorid 0,3 %, primäres Kaliumphosphat 0,3 %. Diese von YABUTA und HAYASHI (1939) zur Gewinnung von Gibberellin angewandte Nährlösung wurde später nach Angaben von Prof. SUMIKI auf Glyzerin 1 % abgeändert.

4. KNOP-Yeastextrakt-Nährlösung mit 2 % Glukose: Kalziumnitrat 0,1 %, primäres Kaliumphosphat 0,025 %, Magnesiumsulfat 0,025 %, Kaliumchlorid 0,025 %, Ferrichlorid zwei Tropfen einer 0,05%igen Lösung je 1000 ml Nährlösung, Difco-Yeast-Extrakt 0,5 %.

Diese Kombination von zwei Nährlösungen fand V. FLÜCK, Assistent am Institut für spez. Botanik an der E.T.H., als geeignet für die Kultur verschiedener Ascomyceten. BAZZIGHER (1953) züchtete *Endothia parasitica* (Murr.) And. mit Erfolg auf dem gleichen Substrat.

Der Anfangs-pH-Wert wurde bei den verschiedenen Versuchen vor der Sterilisation der Nährlösungen im Dampfautoklaven (20 Minuten bei 1 atü und 120° C) durch Zugaben von HCl oder KOH eingestellt. Das Einstellen des pH-Wertes mit Essigsäure hatte bei einem Versuch totales Ausbleiben des Wachstums zur Folge.

Die pH-Werte hatten sich nach der Sterilisation nur wenig verschoben.

### b) Impfmaterial

Beimpft wurden die Kulturen mit Stücken von auf Malzagar gewachsenen Schrägagarkulturen oder durch in Wasser oder Nährlösung aufgeschwemmte Myzel-Sporen-Suspensionen.

Die „trockene" Beimpfung garantiert eine bessere und raschere Ausbreitung der Sporen auf der Nährlösung durch deren Oberflächenspannung. Die „nasse" Beimpfung ergibt eine weniger gleichmäßige Verteilung der oft aneinanderhängenden Sporen (FOSTER 1949). Meistens wurden je 100 ml Nährlösung mit 1 ml einer zehn Tage bei 27° C gewachsenen und in Wasser suspendierten Kultur geimpft.

Bei Stoffwechseluntersuchungen, in denen mehrere Parallelen mit möglichst geringer Streuung gefordert werden, wurde die Konidienzahl nach Filtration durch sterile Watte in der Zählkammer nach Thoma bestimmt und entsprechend mit Wasser verdünnt.

c) Kulturart

Die beimpften Kolben wurden als Stand- oder Schüttelkulturen inkubiert; die letzteren auf einer hin und her gehenden oder rotierenden Schüttelmaschine.

In der Standkultur bildet *Gibberella fujikuroi* eine kompakte Oberflächenmyzeldecke. Bei der Schüttelkultur wächst der Pilz submers in kleinen, kurzen, oft schleimigen Myzelstücken.

Der obengenannten $CO_2$-Stauung bei Standkulturen konnte im Schüttelversuch, bei welchem die Bewegung den Gasaustausch fördert, begegnet werden. Der für Standkulturen typische Alkoholgeruch, welcher sich aus der anaeroben Vergärung der Glukose erklären läßt, fehlte bei den Schüttelkulturen.

Nach Foster (1949) kann durch Temperaturschwankungen im Kulturraum auch bei Standkulturen die Gasumwälzung in den Kulturgefäßen beschleunigt werden.

d) Testmethoden auf biologisch wirksame Stoffe

Bei allen Testarten gilt für *Gibberella fujikuroi*, daß die Teste nach der Probeentnahme so schnell wie möglich durchzuführen sind. Trotz Aufbewahrung der Testlösungen bei — 2° C genügen schon wenige Stunden zur teilweisen oder gänzlichen Inaktivierung der Lösungen.

Der von F. Kobel (1951) und Kern (1952) beschriebene Sporenkeimungstest mit Brandsporen von *Ustilago zeae* (Beckm.) Ung. eignete sich gut zur Bestimmung der Aktivität von Kulturfiltraten und Lösungen der reinen Toxine. Bei diesem Test wird die zu prüfende Lösung in einer Verdünnungsreihe mit Leitungswasser vermischt, eine Sporensuspension aus Brandsporen und Keimungsnährlösung zu den einzelnen Verdünnungsstufen gebracht und nach 16 bis 18 Stunden der Prozentsatz der gekeimten Sporen in jeder Stufe durch mehrfaches Ablesen mikroskopisch bestimmt. Als Einheitsgrenze wird die Konzentration definiert, die die Sporenkeimung auf die Hälfte herabsetzt ($LD_{50}$). Aus den Keimprozenten der Verdünnungsstufen lassen sich die $LD_{50}$ graphisch oder rechnerisch bestimmen. Die Aktivität wird in Einheiten/ml (E./ml) angegeben (F. Kobel 1951).

Wieweit dieser Test auf alle bei *Gibberella fujikuroi* gefundenen oder noch zu findenden biologisch wirksamen Stoffe anspricht, steht noch nicht fest.

Zur Differenzierung der Toxine und ihrer Symptomerkennung wurden Welkeversuche mit Sprossen von sechs bis acht Wochen alten Tomatenpflanzen durchgeführt. Die Tomatensprosse waren im Treibhaus unter möglichst konstanten äußeren Bedingungen gewachsen und hatten ein mittleres Gewicht von 1 bis 2 g. Beschreibungen des Welketestes finden sich bei F. Kobel (1951) und Gäumann, Naef-Roth und Kobel (1952 c). Abgeschnittene Tomatensprosse werden gewogen und in die zu testende Lösung eingestellt. Unter künstlichem Licht nehmen die Pflanzen entsprechend ihrem Frischgewicht eine bestimmte Menge des Toxins

auf. Sie werden nach 48 Stunden Einstellen in Wasser auf Grund der Intensität und Art der Welkesymptome mit den Werten 0 bis 4 bonitiert.

Für Kulturfiltratlösungen erwies sich der Test als ungeeignet, da die Testlösungen hier auf 1/5 verdünnt werden müssen, um toxische Wirkungen des Filtrats selbst auszuschalten. In dieser Verdünnung sprechen die Pflanzen bei kleinen Toxinmengen im Kulturfiltrat meist nicht mehr an.

Bei Beginn der Untersuchungen wurde — in Unkenntnis der Ergebnisse der Japaner — angenommen, Gibberellin habe wuchsstoffartigen Charakter.

Prüfungen von gibberellinhaltigen Extrakten an Kressewurzeln nach MOEWUS (1949 a, b, 1951, MOEWUS et al. 1952) ergaben starke Streuungen der Mittelwerte, die nicht auf der physiologischen Eigenschaft des Gibberellins, sondern eher auf der von CLAUSS (1952) beschriebenen Streuung der Testmethode selbst beruhen dürften.

Als einzig brauchbarer Test für gibberellinhaltige Extrakte konnte in Anlehnung an die japanischen Arbeiten von YABUTA et al. der nachstehend beschriebene Test an Reispflanzen gefunden werden:

In normale bakteriologische Reagenzgläser werden je 2 ml Quarzsand und 1 ml Nährlösung nach KNOP gegeben, die Reagenzgläser mit Wattebäuschen versehen und im Dampfautoklaven sterilisiert. In jedes Reagenzglas kommt ein in Sublimat gebeizter und ausgewaschener Reissamen der Sorte *Rinaldo Bersani* oder *Maratelli*. Bei 24 bis 26° C sind die Reiskörner nach vier bis sechs Tagen gekeimt und zu einer Sproßlänge von etwa 1 cm ausgewachsen.

Nach dieser Zeit wird je 1 ml der Testlösungen sowie Wasser als Kontrolle in die Reagenzgläser pipettiert. Die Pflanzen gelangen bei Raumtemperatur sechs Tage am Tageslicht zur Inkubation.

Nach acht Tagen kann die Ausmessung der Pflanzenlängen erfolgen. Da mit einem Ausfall von 50% der Pflanzen infolge ungleichmäßiger Keimung gerechnet werden muß und wegen großer Streuung der Einzelwerte je Test- und Verdünnungsstufe 50 bis 100 Parallelen erforderlich sind, ist dieser Test sehr zeitraubend. Er setzt zudem das Vorhandensein einer größeren Quantität der Testlösung voraus. Die Ergebnisse sind jedoch gut reproduzierbar.

### 2. Variierung der Kulturbedingungen

Versuch Nr. 3

Wie wächst *Gibberella fujikuroi* bei verschiedenen Temperaturen?

In Petrischalen wurden je 17,5 ml eines Nährbodens aus $Ri_5$-Nährlösung und 2% Agar gegossen und die Platten nach dem Erkalten durch Auflegen eines Filterpapiers von 6 mm Durchmesser, welches in eine Reiskultursporensuspension getaucht worden war, beimpft.

Je zehn Petrischalen wurden in Brutschränken bei Temperaturen von 3 bis 36° C, je um drei Grad zunehmend, inkubiert. Täglich wurde der

mittlere Durchmesser des Myzels ausgemessen. Die berechnete Streuung der Einzelwerte lag unter 10 %.

Abb. 1 zeigt den Wachstumsverlauf in Abhängigkeit von der Temperatur und der Zeit.

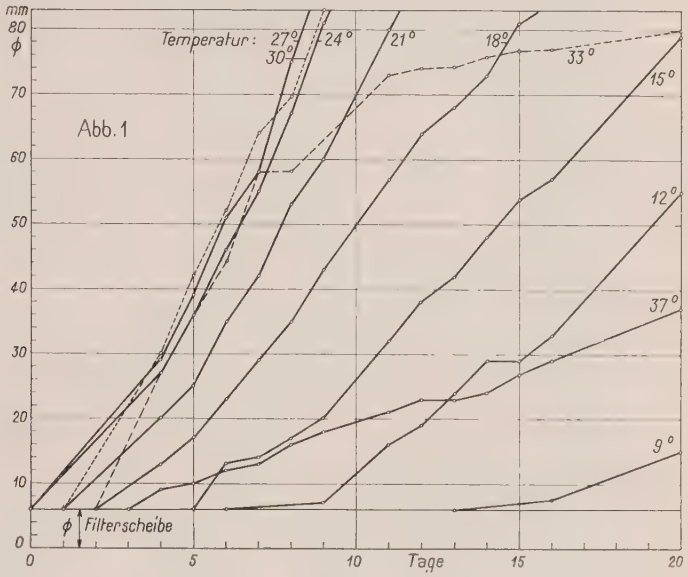



Abb. 1. Der Einfluß der Temperatur auf das Myzelwachstum von *Gibberella fujikuroi* in Petrischalen

Die optimale Wachstumstemperatur liegt zwischen 24 und 30°, die minimale bei 3° C. Über ein Maximum kann nichts ausgesagt werden, da der Pilz bei der höchsten Temperaturstufe, 36 bis 37°, immer noch wächst.

Die geringe tägliche Wachstumszunahme vom 15. Tage an kann auf das beginnende Austrocknen des Nährbodens durch Wasserverdunstung zurückgeführt werden.

An morphologischen Unterschieden bei verschiedenen Temperaturen fielen am zehnten Tage auf:

18° C: Myzel „kurzhaarig", in radialen Streifen wachsend, teilweise submers, weißgelb.
21°: Myzel weniger „kurzhaarig", in radialen Streifen wachsend, weißgelb.
24—30°: Myzel „langhaarig", weißgelb.
33°: Myzel sehr „langhaarig", weißgelb.
37°: Myzel „kurzhaarig", submers, rot.

Bei tiefen Temperaturen wächst der Pilz submers; mit zunehmender Temperatur bildet er Luftmyzel, um dann bei 37° C wieder ganz submers zu wachsen. Die großen morphologischen Unterschiede zwischen 33° und 37° zeigen sich auch im Verlauf der Wachstumskurve in Abb. 1.

Abb. 2 zeigt in Durchlichtaufnahmen die morphologischen Unterschiede bei verschiedenen Temperaturstufen.

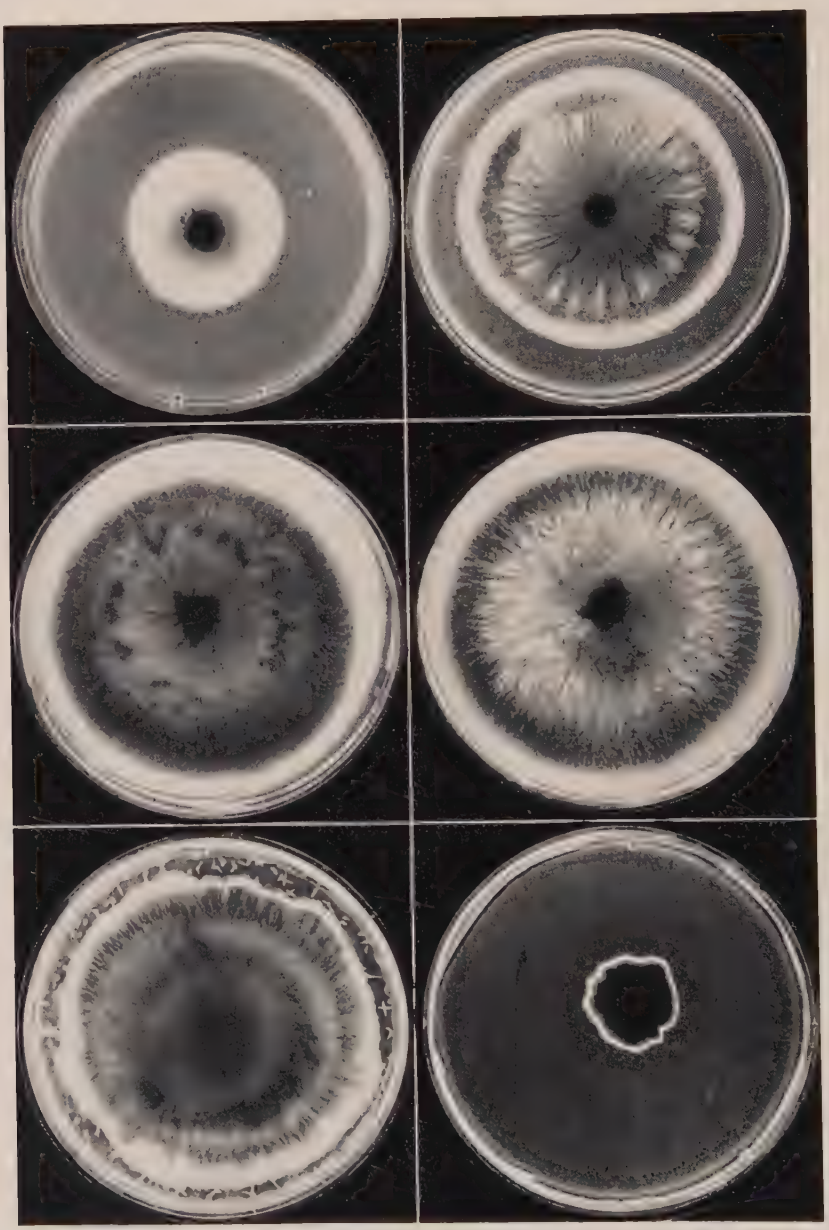


Abb. 2. Myzelwachstum von *Gibberella fujikuroi* auf Agarpetrischalen bei verschiedenen Temperaturen. 0,56 natürlicher Größe. Oben: links: 15 ° C, rechts: 18 °. Mitte: links: 21 °, rechts: 27 °. Unten: links: 33 °, rechts: 37 °
Aufnahme: Photographisches Institut E. T. H.

Ein gleicher mit dem Stamm M 82 durchgeführter Versuch bestätigt mit Ausnahme der fehlenden Pigmentunterschiede die hier gefundenen Werte.

Versuch Nr. 4

Wie verändert sich der pH-Wert der Kulturlösungen bei verschiedenen Temperaturen?

Untersuchungen über den pH-Wert sagen nicht viel über die Bildung biologisch wirksamer Stoffe aus. Da die bekannten Toxine in ihrer reinen Form durchwegs sauren Charakter haben, müßte durch ihre Abscheidung ins Kulturfiltrat der pH-Wert sinken. Die Beobachtung zeigt jedoch, daß der pH-Wert bei toxinhaltigen Kulturfiltraten von *Gibberella fujikuroi* steigt.

Der Anstieg des pH-Wertes läßt jedoch Schlüsse zu über die Geschwindigkeit des Pilzwachstums und den damit verbundenen Stoffwechsel einerseits und den Beginn der Autolyse anderseits. Die bei der letzteren ausgeschiedenen Abbauprodukte haben basischen Charakter (Foster 1949).

$CW_4$-Erlenmeyerkolben wurden mit je 1 ml einer Reiskultursporensuspension von Stamm M 43 beimpft und je fünf Kolben in Brutschränken bei Temperaturen von 3—37 ° C inkubiert.

Jeden Tag wurden jedem Kolben 2 ml Lösung steril entnommen und der mittlere pH-Wert durch ein pH-Meßgerät mit einer Glaselektrode bestimmt.

Bei einem Anfangs-pH-Wert von 4,8 zeigten die Kulturen aller Temperaturstufen, bei welchen Wachstum stattfand, bis zum dritten Tage ein Absinken; mit zunehmender Temperatur und fortlaufender Zeit stieg der pH-Wert an.

Tabelle 1 stellt die am 3., 24. und 42. Tag gefundenen Ergebnisse dar.

*Tabelle 1*

Der Anstieg der pH-Werte von *Gibberella fujikuroi*-Standkulturen bei verschiedenen Temperaturen

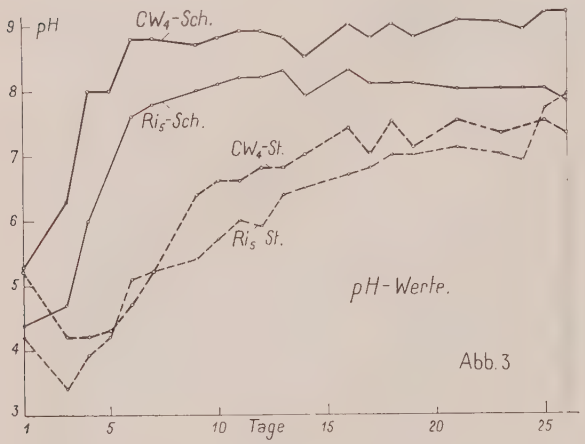
| Temp. | 3. Tag | 24. Tag | 42. Tag |
|---|---|---|---|
| 3 ° C | 4,8 | 5,5 | 5,9 |
| 9 ° C | 4,7 | 5,2 | 6,7 |
| 15 ° C | 4,5 | 7,1 | 7,9 |
| 21 ° C | 4,4 | 8,4 | 8,2 |
| 27 ° C | 4,7 | 7,3 | 8,6 |
| 33 ° C | 4,7 | 7,3 | 8,9 |

Die Stufe 37 ° C fiel infolge Kontamination der Kulturen durch Bakterien aus.

Der rascheren pH-Anstieg bei höheren Temperaturen läßt sich durch den schnelleren Beginn der Autolyse erklären.

Versuch Nr. 5

Wie verhalten sich pH-Wert und *Ustilago*-Aktivität bei parallel geführten Stand- und Schüttelkulturen?



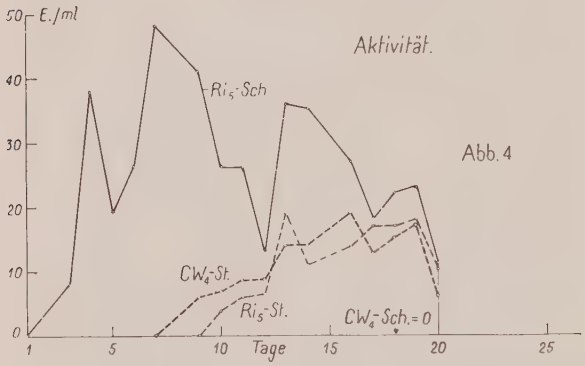




Abb. 3 und 4. Der pH-Wert und die *Ustilago*aktivität bei Stand- und Schüttelkulturen von *Gibberella fujikuroi* auf RICHARD5- und CZAPEK4-Watteextrakt-Nährlösung bei 27 ° C.

Abb. 3. pH-Werte

Abb. 4. Aktivität im *Ustilago*sporenkeimungstest.

Abkürzungen: $Ri_5$ = RICHARD5, $CW_4$ = CZAPEK4 mit Watteextrakt, St. = Standkultur, Sch. = Schüttelkultur

Erlenmeyerkulturen mit $Ri_5$- und $CW_4$-Nährlösung wurden nach gleicher Beimpfung mit Stamm M 43 im gleichen Raum bei 27 ° C zur Hälfte als Stand- und zur Hälfte als Schüttelkulturen inkubiert und täglich nach steriler Probeentnahme aus je 10 Kolben der pH-Wert und die Aktivität bestimmt.

Alle vier Kulturen wuchsen gut, die Schüttelkulturen viel rascher, am besten die $CW_4$-Schüttelkultur.

Aus den Abb. 3 und 4, welche den Verlauf des Versuches darstellen, darf abgelesen werden:

1. Nach anfänglich kurzem Absinken bei den Standkulturen steigt der pH-Wert bei allen vier Serien an.
2. Die Aktivität setzt ein, wenn der pH-Wert ansteigt, meistens erst, wenn er den Wert 6 erreicht hat.
3. Die $CW_4$-Schüttelkultur ergibt, obwohl hier das schnellste Wachstum stattfindet, keine Aktivität. Dieses Ergebnis findet sich auch bei gleicher Versuchsanordnung mit Stamm M 82. Vielleicht werden ausgeschiedene Toxine sofort wieder abgebaut?
4. Die Aktivität bei $Ri_5$-Schüttelkultur erreicht am 4., 7. und 13. Tage Maxima. Später beschriebene Versuche zeigen

derartige Ergebnisse auch bei Stamm M 82. Die Aktivitätsmaxima dürften auf der Bildung verschiedener Toxine, die in der Folge wieder abgebaut werden, beruhen.

5. Die $Ri_5$-Standkultur erreicht, bei viel geringerer Aktivität, auch Maximawerte.

Der gleiche Versuch, mit YABUTA-SUMIKI- und KNOP-Yeast-Nährlösung und Stamm M 82 durchgeführt, ergab bei der ersten Nährlösung keine, bei der letzten nur ganz geringe Aktivität. Während bei KNOP-Yeast der pH-Wert den erwarteten Anstieg zeigte, sank der pH-Wert bei YABUTA-SUMIKI mit zunehmender Versuchsdauer beträchtlich. Wieweit dieses Absinken auf das Freiwerden von Gibberellin rückführbar wäre, steht nicht fest.

Versuch Nr. 6

Wie verhalten sich Aktivität und pH-Wert bei Stamm M 82 als Standkultur bei 33° C?

Vorversuche hatten ergeben, daß 33° C eine dem Pilz bezüglich der Aktivität optimale Temperatur darstellt, ohne daß das Wachstum des Pilzes dabei merklich verlangsamt ist.

Diese optimale Temperatur, die nur bezüglich der Welketoxinbildung, nicht jedoch bezüglich der Gibberellinbildung untersucht wurde, dürfte das Auftreten der Bakanaë-Krankheit vor allem in Japan und weniger in den andern Ländern erklären.

Gemäß der Literatur (BALDACCI 1945, 1946) und auf Grund nicht veröffentlichter Angaben wurde der Pilz in europäischen Ländern an verschiedenen Gräsern wohl beobachtet und isoliert, es fehlen jedoch Angaben über Beobachtungen des Bakanaëeffektes. SETO (1935) gibt als optimale Temperatur für Infektion und Wachstum des Pilzes auf Reis 35° C an.

Einem über 30 Tage sich erstreckenden Standkulturversuch mit Stamm M 82 und $CW_4$-Nährlösung wurden — mit Ausnahmen — täglich fünf Erlenmeyerkolben entnommen und die pH-Werte und Aktivität bestimmt.

Abb. 5 zeigt die Versuchsergebnisse. Sie lassen sich wie folgt zusammenfassen:

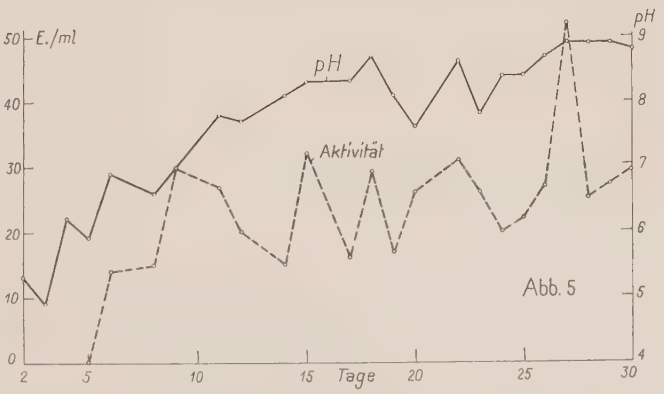



Abb. 5. Der pH-Wert und die *Ustilago*aktivität bei einer Standkultur von *Gibberella fujikuroi* auf CZAPEK$_4$-Watteextrakt-Nährlösung bei 33° C

1. Die pH-Kurve zeigt bis zum 18. Tage steigende Tendenz.
2. Die Aktivität erreicht am 9., 15., 18., 22. und besonders am 27. Tage Maxima-Werte.
3. Ansteigen des pH-Wertes bedeutet somit Zunahme der *Ustilago*-Aktivität.

Versuch Nr. 7

Wie beeinflußt der Watteextrakt bei der $CW_4$-Nährlösung den pH-Wert und die Aktivität bei Stamm M 82?

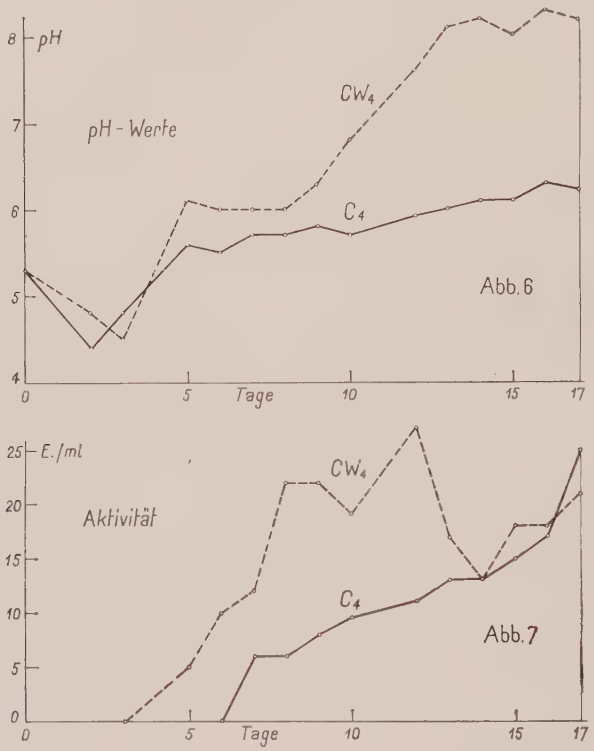



Abb. 6 und 7. Der Einfluß des Watteextraktes in der CZAPEK$_4$-Nährlösung auf den pH-Wert und die *Ustilago*-aktivität einer *Gibberella fujikuroi*-Standkultur bei 33° C

Abb. 6. pH-Werte
Abb. 7. Aktivität im *Ustilago*sporenkeimungstest
Abkürzungen:

$C_4$ = CZAPEK$_4$-Nährlösung ohne Watteextrakt
$CW_4$ = CZAPEK$_4$-Nährlösung mit Watteextrakt

Erlenmeyerkolben mit $CW_4$ (CZAPEK-Nährlösung mit) und $C_4$ (CZAPEK-Nährlösung ohne Watteextrakt) wurden mit je 5 Millionen Sporen/Kolben aus einer zehn Tage alten $CW_4$-Standkultur beimpft und bei 33° C als Standkultur inkubiert.

Während 17 Tagen erntete man täglich fünf Kolben aus beiden Serien und prüfte diese auf ihre pH-Werte und Aktivität.

Die gefundenen Werte zeigen Abb. 6 und 7, aus welchen hervorgeht:

1. Beide Kulturen zeigen das bekannte anfängliche Absteigen der pH-Werte.
2. Infolge viel stärkeren Wachstums steigt der pH-Wert bei $CW_4$ rascher an.
3. Bei stärkerem Wachstum stellt sich die Aktivität bei $CW_4$ rascher ein.
4. Aktivität und pH-Wert zeigen höhere Maximalwerte bei $CW_4$.

5. Schon am zwölften Tag erreicht $CW_4$ ein Maximum in der Aktivität. $C_4$ dagegen steigt bis zum Versuchsende am 17. Tag gleichmäßig an. Eine längere Versuchsdauer hätte wohl auch beim langsamer wachsenden $C_4$ Maxima-Werte ergeben.

Aus 1. bis 5. geht hervor, daß der Watteextrakt als Zugabe zur Czapek-Nährlösung bei Standkulturen für *Gibberella fujikuroi* eine Zunahme der Wachstumsgeschwindigkeit, des pH-Wertes und ein schnelleres Eintreten der Aktivität bewirkt.

### 3. Aktive Kulturfiltrate und ihre biologisch wirksamen Stoffe

#### a. Gibberellinhaltige Extrakte

Bei Beginn meiner Untersuchungen mit *Gibberella fujikuroi* waren die neueren Publikationen der Japaner, vor allem diejenigen von Sumiki (1952), in welcher Gibberellin als unwirksame Substanz in allen Wuchsstofftesten beschrieben wird, noch nicht zugänglich.

Zahlreiche Bestrebungen, einen wirksamen Test für gibberellinhaltige Extrakte zu finden, schlugen, mit Ausnahme des Reistestes, aus diesen Gründen fehl. Da jedoch der Reistest, wie oben beschrieben, sehr zeitraubend und im Gewächshaus in der Durchführung ungünstig ist, wurden bisher nur wenige Prüfungen mit gibberellinhaltigen Extrakten durchgeführt.

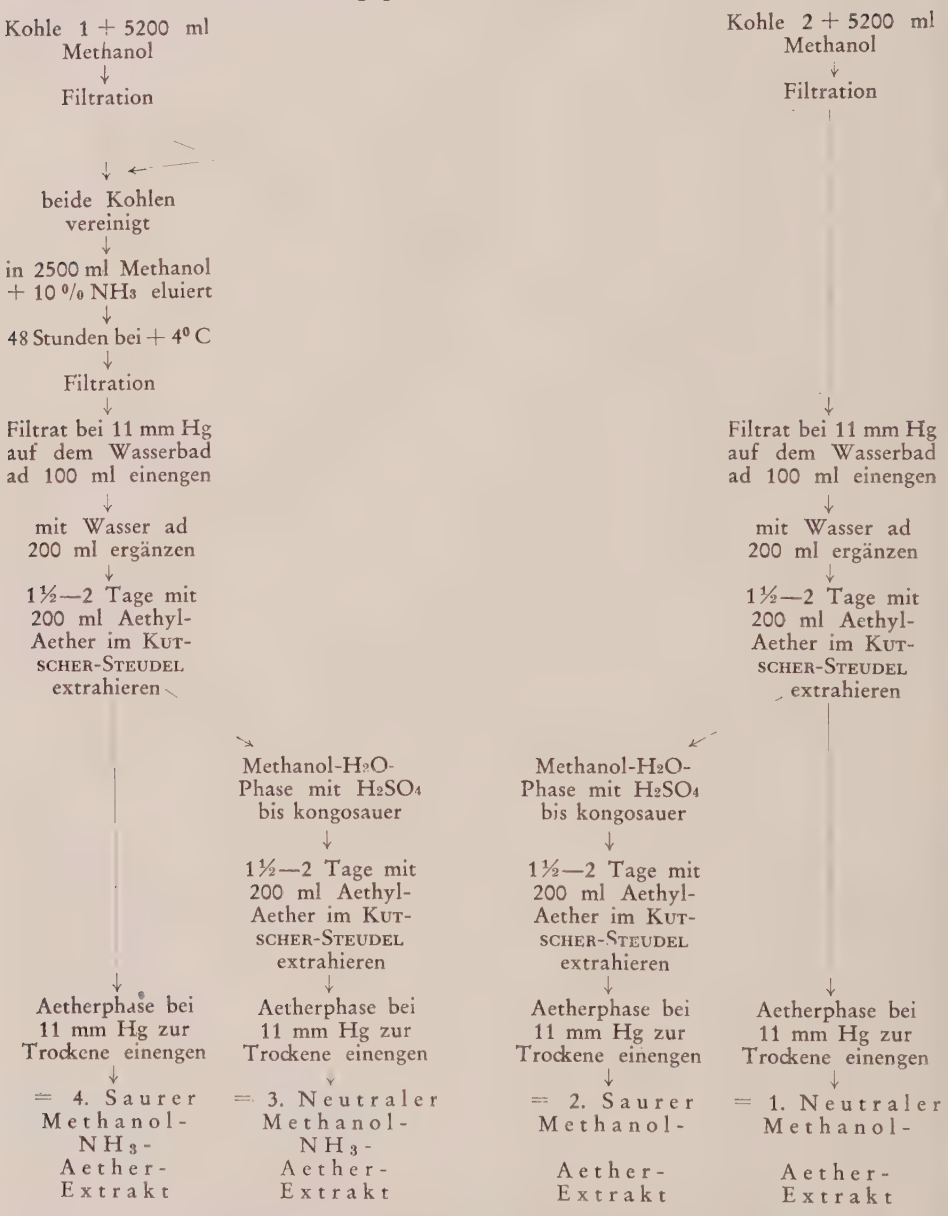
Die Prüfung von reinem, aus Japan erhaltenem Gibberellin A im Welke- und *Ustilago*sporenkeimungstest verlief negativ. In diesem Sinne stellt Gibberellin A kein Welketoxin dar. Da nur wenig Substanz vorhanden war, konnten diese Teste nur bis zu einer molaren Konzentration von $9 \cdot 10^{-3}$ mol. durchgeführt werden. Es steht jedoch fest, daß bei dieser molaren Konzentration Fusarinsäure und andere Toxine auf diese Teste positiv ansprechen (Gäumann et al. 1952 c).

##### aa. Chemische Aufarbeitung

Gestützt auf Angaben der Literatur (Yabuta und Hayashi 1939, Yabuta et al. 1941 c, d, e) wurden nach dem Auswachsen von *Gibberella fujikuroi*-Kulturen auf Yabuta- und Yabuta-Sumiki-Nährlösung die Kulturen durch ein Nylontuch geerntet. Das Filtrat wurde zweimal mit 0,4 bis 0,5 % Norit-Supra-Aktivkohle mit einem Vibromischer nach Dr. Müller kräftig durchmengt. Durch die Filtration mit einer Porzellannutsche am Wasserstrahlvakuum oder durch Zentrifugation konnte die Kohle vom Filtrat getrennt werden.

Kohle 1 und 2 wurden in je 2,5 Liter Methanol eluiert und 24 bis 48 Stunden bei 4 ° C belassen.

Die weitere Aufarbeitung geschah nach folgendem Schema:




An Stelle von Methanol wurde auch Pyridin zum Extrahieren der Kohle verwendet; dieses ließ sich jedoch sehr schlecht einengen.

Kristallisationsversuche mit den Extrakten 1 bis 4 geschahen durch Kochen derselben mit Ligroin und Petrolaether. Die Rohextraktausbeute war jedoch sehr gering, so daß Kristallisationsversuche zur Gewinnung von Gibberellin fehlschlugen.

ab. Ergebnisse beim Reisversuch

Unter mehreren Malen wurden verschiedene Stämme auf YABUTA-Nährlösung bei pH 2,9 als Glaxokulturen nach Beimpfung durch eine Reissporensuspension bei 24° C vier Wochen als Standkultur inkubiert.

Die Werte für diese äußeren Bedingungen waren aus der Literatur übernommen worden.

Gemäß 3aa wurden die Kulturen geerntet, aufgearbeitet und die vier Fraktionen dem Reistest unterzogen. Stamm 6063, ein Reisstamm, bewirkte bei allen vier Fraktionen eine Förderung, die bei der Konzentrationsstufe 1/1 weniger, bei der Verdünnung 1/1000 am stärksten war. Die behandelten Reispflanzen hatten gegenüber den Kontrollen um 20% in der Länge zugenommen. Tabelle 2 zeigt die Resultate dieses Versuches.

*Tabelle 2*

Der Einfluß gibberellinhaltiger Extrakte auf die Längenzunahme von Reispflanzen

| Extrakt: | Verdünnung: | N: | $\bar{x}$: | Sicherung: |
|---|---|---|---|---|
| Kontrolle | — | 47 | 6,2 | — |
| Methanol-Aether neutral | unverdünnt | 25 | 6,4 | — |
| | 1/10 | 26 | 7,1 | 0,01 |
| | 1/100 | 25 | 7,2 | 0,001 |
| | 1/1000 | 28 | 7,2 | 0,001 |
| Methanol-Aether sauer | unverdünnt | 28 | 6,3 | — |
| | 1/10 | 28 | 6,8 | 0,05 |
| | 1/100 | 29 | 6,9 | 0,01 |
| | 1/1000 | 30 | 7,1 | 0,01 |
| Methanol-$NH_3$-Aether neutral | unverdünnt | 25 | 6,9 | 0,05 |
| | 1/10 | 26 | 7,2 | 0,01 |
| | 1/100 | 28 | 7,0 | 0,01 |
| | 1/1000 | 28 | 7,3 | 0,001 |
| Methanol-$NH_3$-Aether sauer | unverdünnt | 24 | 5,3 | 0,01 |
| | 1/10 | 28 | 6,9 | 0,05 |
| | 1/100 | 27 | 6,7 | — |
| | 1/1000 | 26 | 7,0 | 0,01 |

N = Anzahl Testpflanzen
$\bar{x}$ = Mittlere ausgemessene Länge der N Testpflanzen
Sicherung = Sicherung nach der t-Verteilung von STUDENT (LINDER 1945)

Die anderen angewandten Stämme zeigten teilweise eine starke Hemmung, vor allem in den Fraktionen 1 u. 2, also bei alkalischen Extrakten der Aktivkohle, während die sauren Extrakte passiv bis leicht positiv ansprachen.

b. Fusarinsäure

Zur Klärung, ob die hohe *Ustilago*aktivität bei Kulturversuchen von *Gibberella fujikuroi* auf Fusarinsäurebildung zu-

rückzuführen sei, wurde versucht, dieses von den Japanern (YABUTA et al. 1934) gefundene Toxin zu isolieren.

Ein $CW_4$-Erlenmeyer-Standkulturversuch, der mit einer Sporensuspension einer zehn Tage alten Reiskultur von Stamm M 82 beimpft worden war, wurde bei 33° C inkubiert und, da schon nach sechs Tagen eine *Ustilago*-aktivität von 30 E./ml Kulturfiltrat nachweisbar war, am gleichen Tage geerntet. Die durch ein Nylontuch filtrierte Lösung wurde bei einem Volumen von 8,5 Litern zweimal mit 5% Norit-Supra-Aktivkohle je eine Stunde behandelt und beide Kohlen in je 2,5 Liter Methanol über Nacht bei + 4° eluiert.

Das filtrierte Methanoleluat zeigte gelbe Farbe und hellblaue Fluoreszenz. Nach Einengung auf 50 ml hatten sich in der Kälte weißbraune Kristalle gebildet, die nach Zugabe von 80 ml Methanol gut in Lösung gingen.

Zugabe von Wasser ad 230 ml ergab eine trübgelbe Lösung. Der pH-Wert wurde mit HCl von 5,4 auf 4,2 gesenkt und die Methanol-Wasserphase drei Tage mit Aether 1:1 im KUTSCHER-STEUDEL extrahiert.

Nach Verdampfung der Aetherphase am Vakuum blieben 960 mg Trockensubstanz, die eine Stunde auf dem Wasserbad am Rückflußkühler mit einem Gemisch von Petrolaether/Ligroin 1:1 gekocht wurden.

Aus dem Ligroin/Petrolaetherextrakt bildeten sich in der Porzellanschale auf dem Wasserbad nach dem Einengen der Lösung weiße Kristalle, welche in einem Glasfiltertiegel Gooch G 4 von der Mutterlauge abgetrennt werden konnten. Nach zweimaligem Umkristallisieren blieben 384 mg weiße, sechsseitige, längliche Plättchen, welche bei 107 bis 108° C schmolzen. Die physiologische Wirksamkeit entsprach im Welke- und *Ustilago*test den Angaben der Literatur (GÄUMANN et al. 1952 c) über Fusarinsäure. Eine Überprüfung der Substanz durch Dr. J. RENZ, Basel, ergab, daß die gefundene Substanz mit der von YABUTA et al. (1934) beschriebenen Fusarinsäure identisch war.

Diese aus *Gibberella fujikuroi* isolierte Substanz wurde im Welke- und *Ustilago*test mit einer von Dr. A. BOLLER, Basel, synthetisierten Fusarinsäure (PLATTNER, KELLER und BOLLER, 1954), Smp. 101 bis 103° C verglichen und zeigte keine Unterschiede bezüglich Aktivität und Symptomen.

### c. Vasinfuscarin

GÄUMANN et al. (1953) referieren über ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc., das Vasinfuscarin, welches durch Fällung aus einem Teil Filtrat einer Pilzkultur mit zwei Teilen Methanol und anschließender Reinigung als amorphe Substanz dargestellt werden konnte. Kulturfiltratproben von *Gibberella fujikuroi*-Schüttelkulturen auf $Ri_5$-Nährlösung bewirkten im Welkeversuch mit Tomatensprossen ebenfalls die charakteristische braune Verfärbung der Leitbündel im Stengel. Allerdings traten braune Blattadern seltener auf als bei *Fusarium lycopersici*.

Fällungsversuche von aktiven Kulturfiltraten mit Methanol ergaben einen kräftigen Niederschlag, welcher nach Reinigung durch Umfällen die für Vasinfuscarin bekannten Symptome im Test ergab. Als biologisch wirksame Komponente dürfte somit *Gibberella fujikuroi* auch Vasinfuscarin in die Kulturlösung ausscheiden. Positive Ergebnisse über die Darstellung des reinen Toxins stehen, auch bei *Fusarium lycopersici* Sacc., noch aus, da die Substanz nach der Methanolfällung sehr schwer in Wasser löslich ist. Die Vermutung liegt nahe, daß das Vasinfuscarin durch Methanol — falls die Klassifizierung als Eiweiß zutrifft — denaturiert wird.

Zur Umgehung des Methanols wurde versucht, das Vasinfuscarin mit Ammonsulfat aus dem Kulturfiltrat auszusalzen. Der Erfolg blieb auch bei Absättigung der Kulturlösung mit Ammonsulfat aus.

### d. Dehydrofusarinsäure

Stark aktive Kulturfiltrate von *Gibberella fujikuroi* zeigten u. a. beim Welkeversuch mit Tomatensprossen als Symptome oft gelbe Verfärbungen der Blätter, verbunden mit starken Nekrosen der Blattränder. Diese letzten Symptome sind ähnlich denjenigen des Lycomarasmins (Gäumann et al. 1950, Boller 1951, Gäumann 1951 b).

Die gelben Verfärbungen oder Ausbleichungen von Tomatenblättern waren jedoch bisher als ein durch Pilzkulturfiltrat hervorgerufenes Welkesymptom unbekannt.

Es gelang in der Folge aus einem $Ri_2$-Schüttelkulturversuch mit Stamm M 82, zehn Tage bei 24 ° C inkubiert (bei 33 ° war zu jenem Zeitpunkt keine Schüttelmaschine verfügbar, daher die tiefere Temperatur), eine kristalline Verbindung zu finden, die als Hauptsymptom im Welkeversuch die gelben Verfärbungen von Tomatenblättern und die Nekrosen an den Blatträndern hervorrief.

Die chemische Aufarbeitung war die folgende:

Nach Adsorption der aktiven Bestandteile aus 5,6 Liter Kulturfiltrat an Aktivkohle blieb diese in 1000 ml Pyridin über Nacht bei + 4 ° C stehen.

Der tiefbraune Pyridinextrakt wurde auf dem Wasserbade zur möglichen Trockene eingedampft und nach Ansäuren mit 20 ml HCl in 300 ml Aethanol aufgenommen. Allfällige Rückstände wurden im Faltenfilter abgetrennt und die Aethanollösung am Vakuum zur Trockene verdampft.

Der braune Rückstand ließ sich gut in 100 ml Wasser lösen und wies nach Filtration einen pH-Wert von 2,0 auf, der mit viel n KOH auf 4,5 gehoben wurde.

Nach drei Tagen Extraktion der Lösung im Kutscher-Steudel mit Aethylaether 1:1 wurde die Aetherphase zur Trockene verdampft, der gelbe Rückstand mit Petrolaether eine Stunde am Rückflußkühler gekocht und anschließend in der Porzellanschale auf dem Wasserbade etwas eingeengt. Es bildeten sich weißgelbe Kristalle, die nach Trennung von der Mutterlauge in Ligroin aufgenommen und gekocht wurden. Nach Einengen des Ligroins

in der Porzellanschale fanden sich 33 mg weiße Kristalle, die nach Umkristallisieren einen Smp. von 112 bis 114° aufwiesen.

Die biologische Prüfung der höher als Fusarinsäure schmelzenden Substanz ergab als Welkesymptome bei Tomatensprossen gelbe Verfärbungen der Blattspreiten, Nekrosen an den Blatträndern, die oft eingerollt waren, sowie Schrumpfungen des Stengels.

Analysen konnten mit der Substanz infolge Verunreinigungen und zu geringer Menge nicht durchgeführt werden.

Die Adsorption von biologisch wirksamen Substanzen im Kulturfiltrat an Aktivkohle hat erstens den Nachteil der unvollständigen Trennung. Das behandelte Kulturfiltrat weist meistens noch eine beträchtliche Restaktivität auf. Zweitens werden unerwünschte Komponenten des Kulturfiltrats an die Kohle adsorbiert.

Ein neuer Ansatz, unter gleichen Wachstums- und Kulturbedingungen gewonnen, wurde von Dr. J. RENZ, chem. Laboratorium der SANDOZ AG Basel, chemisch wie folgt aufgearbeitet und die Reinsubstanz untersucht:

„8,25 Liter der Kulturlösung wurden durch Zugeben von 174 ml 2n HCl auf ein pH = 4 eingestellt und dann zehnmal mit je zwei Liter Essigester ausgeschüttelt. Die dabei entstehenden Emulsionen konnten nur durch Zentrifugieren getrennt werden. Die vereinigten Essigesterauszüge wurden im Vakuum zur Trockene gebracht. Der Eindampfrückstand wurde in 200 ml Essigester aufgenommen, wobei eine etwas trübe Lösung entstand. Diese wurde von wenig ungelöst gebliebenem Harz und von der Trübung durch Filtration befreit und dann wieder zur Trockene gebracht. Man erhielt 2,53 g eines bräunlichen Harzes, das nunmehr vollständig und klar in Essigester löslich war.

Zur weiteren Fraktionierung wurde das braune Harz (2,48 g) in 250 ml Wasser und 10 ml Sodalösung aufgenommen, wobei bis auf einen geringfügigen braunen harzigen Rückstand alles in Lösung ging. Der pH-Wert dieser Lösung betrug 8,7. Die alkalische Lösung wurde jetzt mitsamt dem ungelösten Harz einmal mit 100 ml und dann noch viermal mit je 50 ml Essigester ausgeschüttelt, wobei auch die ungelösten Anteile in Lösung gingen. Die Essigesterfraktionen wurden mit wenig Wasser gewaschen und eingedampft. Der Rückstand, ein dunkles braunes Harz, wog 0,37 g.

Zur Isolierung der sauren Anteile wurde die alkalische, mit Essigester ausgeschüttelte, wässerige Lösung mit 8 ml 2n HCl auf ein pH von 3,5 gebracht und dann zuerst fünfmal mit je 50 ml Essigester vorextrahiert und anschließend in einem Extraktionsapparat zur Entfernung der besser wasserlöslichen Anteile weiter erschöpfend mit Essigester ausgezogen.

Aus dem Essigestervorextrakt wurden nach dem Eindampfen 0,98 g eines bräunlich gefärbten harzigen Präparates erhalten; der zweite Essigesterauszug lieferte ein nur wenig gefärbtes, z. T. mit Nadeln durchsetztes Harz in einer Menge von 0,87 g.

Das Präparat aus dem Vorextrakt (0,98 g) wurde in 1 bis 2 ml Essigester aufgenommen, wobei sich bald kleine Nadeln abzuscheiden begannen. Nach Stehen über Nacht im Eisschrank wurde das Kristallisat abfiltriert und mit etwas eiskaltem Essigester ausgewaschen. Es konnten so 0,32 g eines noch gelblich gefärbten Kristallisates erhalten werden. Diese Kristalle waren in den meisten Lösungsmitteln, wie Wasser, Alkohol, Aceton, Aether, Benzol leichtlöslich, in siedendem Hexan jedoch schwerlöslich. Das Präparat wurde deshalb in 100 ml siedendem Hexan aufgenommen, wobei eine kleine Menge eines bräunlichen Harzes ungelöst zurückblieb. Das klare heiße Filtrat trübte sich zuerst beim Abkühlen, dann schieden sich rasch Nadeln ab. Nach längerem Stehen wurden diese abfiltriert. Man erhielt 210 mg farblose Nadeln, die bei 118 bis 119° C schmolzen.

Auch das durch erschöpfendes Extrahieren der sauren wässerigen Lösung erhaltene Präparat (0,87 g) wurde mit siedendem Hexan behandelt. Nach Abgießen der heißen Lösung von ungelösten bräunlichen Harzanteilen, schieden sich daraus Nadeln in einer Menge von 350 mg ab, die einen Schmelzpunkt bei 116 bis 118° hatten. Da diese Verbindung sowohl im Schmelzpunkt wie auch im Mischschmelzpunkt, aber auch in den sonstigen Eigenschaften, wie Löslichkeit, Kristallisationsart, mit dem Kristallisat aus der Vorfraktion übereinstimmte, so wurden die beiden Präparate vereinigt (= 560 mg) und zu weiterer Reinigung nochmals aus Hexan umkristallisiert. Zur vollständigen Lösung waren 150 ml siedendes Hexan notwendig; beim Abkühlen schieden sich rasch einheitliche Nadeln ab, die nach 15 Stunden filtriert wurden (430 mg). Der Schmelzpunkt[1]) lag (ohne vorheriges Sintern) bei 118 bis 120°. Der Mischschmelzpunkt mit einer synthetischen[2]), ebenfalls aus Hexan umkristallisierten Fusarinsäure (Smp. 97 bis 99°) lag bei 106 bis 109°; derjenige mit natürlicher Fusarinsäure[3]) (Smp. 105 bis 107°) bei 108 bis 110°. Die Mischung von diesen Verbindungen führte demnach zu keiner Schmelzpunktdepression.

$C_{10}H_{11}O_2N$ Berechnet: C 67,78; H 6,26; O 18,05; N 7,91 %
(177,20) Gefunden: C 68,05; H 6,49; O 18,37; N 7,94 %

Die Analyse stimmt auf eine um $H_2$ ärmere Verbindung als Fusarinsäure ($C_{10}H_{13}O_2N$). Daß es sich hier ebenfalls um eine Säure handelt, zeigt die Titration mit Natronlauge:

17,505 mg Substanz wurden in Wasser gelöst und mit 0,01-n NaOH gegen Phenolphthalein titriert. Der Laugenverbrauch betrug 10,470 ml.

Aequivalentgewicht Ber. 177,2; Gef. 167.

[1]) Die hier angegebenen Schmelzpunkte sind im Röhrchen bestimmt worden und sind korrigiert.

[2]) Präparat ETH, Zürich (Plattner, Keller und Boller 1954).

[3]) Das Präparat wurde frisch aus Hexan umkristallisiert.

Die Verbindung ist nicht nur leicht löslich in Wasser, sondern auch in Äther und den meisten anderen organischen Lösungsmitteln. Eine optische Aktivität ist nicht zu beobachten. Von der Fusarinsäure ist die neue Verbindung deutlich unterschieden durch den höheren Schmelzpunkt und die Form der beim Umkristallisieren aus Hexan sich abscheidenden Kristalle.

Da die Fusarinsäure eine n-Butylpicolinsäure[1]) ist, so schien die Möglichkeit gegeben, daß die neue Verbindung aus *Gibberella fujikuroi* durch partielle Hydrierung in Fusarinsäure übergeführt werden könne. Es wurde deshalb noch ein Hydrierungsversuch unternommen, der zu einem Präparat führte, das in seinen Eigenschaften weitgehend mit Fusarinsäure übereinstimmte.

### Hydrierung des Präparates mit Platin in Eisessig

30 mg Platinoxyd wurden in 1 ml Eisessig vorhydriert und dann mit der Lösung von 92 mg Substanz Smp. 118 bis 120° (= etwa 0,5 Millimol) in 5 ml Eisessig vermischt und weiter mit Wasserstoff geschüttelt. Die Wasserstoffaufnahme war anfangs rapide, nach acht Minuten waren bereits 11,5 ml verbraucht. Dann verlangsamte sich die Aufnahme; nach 15 Minuten wurde der Versuch abgebrochen, da jetzt 12,8 ml $H_2$, also ungefähr die für zwei H-Atome benötigte Menge, verbraucht waren. Die vom Katalysator filtrierte Lösung wurde eingedampft. Der Eindampfrückstand kristallisierte nach dem Trocknen im Exsiccator größtenteils durch. Er wurde in 3 ml siedendem Hexan aufgenommen. Beim Abkühlen schied sich zuerst ölige Substanz ab, die aber rasch weitgehend kristallisierte. Das Rohprodukt (72 mg) schmolz noch unscharf bei 95 bis 100° C. Nach zweimaligem Umkristallisieren am siedenden Hexan wurden die für die Fusarinsäure charakteristischen sechsseitigen länglichen Plättchen erhalten, welche bei 99 bis 100° schmolzen. Der Mischschmelzpunkt mit Fusarinsäure natürlicher Herkunft (Smp. 105 bis 107°) lag bei 101°.

$C_{10}H_{13}O_2N$ Berechnet: C 67,02; H 7,31; N 7,82 %
(179,21) Gefunden: C 66,74; H 7,57; N 7,93 %

Wird die Hydrierung nicht nach der Aufnahme von 1 Mol $H_2$ abgebrochen, sondern bis zum Ende weitergeführt, so werden — wie in einem zweiten Versuch festgestellt wurde — nach 24 Stunden etwa 4 Mol. Wasserstoff aufgenommen. Bei der Hydrierung wird demnach die Doppelbindung in der Seitenkette sehr rasch hydriert; die weiteren 3 Mol Wasserstoff werden zur Absättigung des Pyridinringes verbraucht.

Aus dem Hydrierungsversuch geht hervor, daß die Verbindung vom Smp. 118 bis 120° aus *Gibberella fujikuroi* sehr wahrscheinlich eine Dehydrofusarinsäure darstellt. Die Lage der Doppel-

[1]) YABUTA et al. (1934).

bindung ist noch ungewiß. Sie muß in der n-Butyl-Seitenkette lokalisiert sein, und für ihre genaue Stellung bestehen hier drei verschiedene Möglichkeiten."

Die biologische Prüfung der neuen Substanz, welche wir Dehydrofusarinsäure benennen möchten, zeigt im Vergleich mit einer synthetischen Fusarinsäure (Smp. 101 bis 103°) folgende Wirkung beim *Ustilago*test, bei gleicher molarer Konzentration der beiden Lösungen:

| Konzentration: | $6{,}7 \cdot 10^{-3}$ mol | $3{,}35 \cdot 10^{-3}$ mol |
|---|---|---|
| synthetische Fusarinsäure | 61 E./ml | 48 E./ml |
| Dehydrofusarinsäure | 38 E./ml | 26 E./ml |

(E./ml = *Ustilago*-Einheiten/ml Testlösung [KOBEL 1951])

Abb. 8. Wirkung einer $6{,}7 \cdot 10^{-3}$ molaren synthetischen Fusarinsäurelösung im Welketest mit Tomatenpflanzen. Symptome nach 48 Stunden. 1,5 natürlicher Größe Aufnahme: Photographisches Institut E. T. H.

Dehydrofusarinsäure spricht somit im *Ustilago*test weniger stark an als synthetische Fusarinsäure (Smp. 101 bis 103°), resp. als natürliche Fusarinsäure (Smp. 107 bis 108°), die sich ja physiologisch beide gleich verhalten (GÄUMANN et al. 1952c).

Der Welketest mit Sprossen von sechs bis acht Wochen alten Tomatenpflanzen ergibt mit den gleich konzentrierten Lösungen

bei einem pH-Wert von 5,0 bis 5,5 und einer Dosis von 0,25 ml/g Tomatenfrischgewicht folgende Intensitätsstufen (GÄUMANN et al. 1952 c):

| | Konzentration: | $6{,}7 \cdot 10^{-3}$ mol | $3{,}35 \cdot 10^{-3}$ mol |
|---|---|---|---|
| synthetische Fusarinsäure | Blätter: | 2,5 | 0,8 |
| | Stengel: | 3 | 1,7 |
| Dehydrofusarinsäure | Blätter: | 2,3 | 1,0 |
| | Stengel: | 1,7 | 0,4 |

Abb. 9. Wirkung einer $6{,}7 \cdot 10^{-3}$ molaren Dehydrofusarinsäurelösung im Welketest mit Tomatenpflanzen nach 48 Stunden. Symptome auf einem Fiederblättchen. Rechts Kontrolle. 5,25 natürlicher Größe Aufnahme: Photographisches Institut E. T. H.

Die Symptome bei synthetischer Fusarinsäure sind:

Blätter: Graugrüne Nekrosen auf den Blattspreiten, Einrollen derselben;

Stengel: Stengel und Blattstiele geschrumpft, verfärbt (Abb. 8).

Die Symptome der Dehydrofusarinsäure sind:

Blätter: Gelbe Verfärbungen der Blattspreiten um die Blattrippen (Abb. 9), Nekrosen der Blattränder, teilweise Nekrosen auf den Blattspreiten (wie Fusarinsäure), Schlaffheit der ganzen Pflanze, Blätter oft gekräuselt (Abbildung 10).

Stengel: Stengel und Blattstiele geschrumpft.

Bezüglich der Wirkungsstärke der beiden Toxine dürften Tomatenblätter auf Dehydrofusarinsäure gleich bis besser ansprechen als Fusarinsäure, während die letzte eine viel stärkere Stengelwirkung zeigt.

Abb. 10. Wirkung eines dehydrofusarinsäurehaltigen Extraktes im Welketest mit Tomatenpflanzen. Symptome eines Blattes nach 48 Stunden. 1,5 natürl. Größe
Aufnahme: Photographisches Institut E. T. H.

Die Dehydrofusarinsäure weist außer den Fusarinsäuresymptomen die gelben Verfärbungen der Blattspreiten, die Nekrosen der Blattränder und die allerdings nicht immer auftretende Kräuselung der Blätter auf.

## IV. Untersuchungen des Stoffwechsels bei *Gibberella fujikuroi*

Die Ergebnisse der Kulturversuche bei *Gibberella fujikuroi* regten Stoffwechseluntersuchungen im Zusammenhang mit dem Wachstum und der biologischen Aktivität des Pilzes an. Während die Angaben der Literatur über den Stoffwechsel der Bakterien reichlich sind, kennt man diesen bei den Pilzen weniger gut. Bis heute sind vor allem die *Hefen* und *Aspergillen*, sowie in neuerer Zeit die *Penicillien* Gegenstand der Untersuchungen gewesen.

### 1. Methoden für Bestimmungen

#### a) Myzelgewicht

Papierfilter (SCHLEICHER-SCHÜLL Nr. 604, Durchmesser 5,5 cm) werden nach Beschriftung in einer Glasschale im Thermostaten vier Stunden bei 103 ° C getrocknet und anschließend im Vakuumexsikkator 20 bis 30 Minuten bis zur Abkühlung belassen.

Nach Feststellung des Leergewichts werden die Filter (Numerierung auf der Unterseite) in Porzellannutschen gelegt. Das zu bestimmende Myzel kann durch Filtration am Vakuum mit einer Saugflasche von der Nährlösung getrennt werden.

Falls noch Teile des Myzels durch den Filter in das Filtrat entwichen sind, wird dieses ein zweites Mal abgenutscht. Das Myzel aus einem 500-ml-Erlenmeyerkolben wird durch Absaugen von 400 ml destilliertem Wasser (50 °) gewaschen und so von den Nährlösungsrückständen befreit.

Das gewaschene Myzel wird eine Nacht in der Glasschale bei 50 bis 60 ° und am anderen Tag bei 103 bis 104 ° C während vier Stunden getrocknet. Nach 20 bis 30 Minuten Stehenlassen im Vakuumexsikkator wird das Myzelgewicht bestimmt.

Von der üblichen Falten- oder Normalfiltration wurde abgewichen, weil sich das oft, besonders während der Autolyse, schleimige Myzel sehr schlecht abfiltrieren und waschen läßt. Braune Ränder der Filter (Zuckerrückstände!) nach der Trocknung zeigen nicht genügend gewaschene Filter und ergeben unrichtige Werte mit hohen Streuungen.

Infolge der oft täglich zehnfachen Myzelgewichtsbestimmung mußte somit diese schnellere und nicht minder exakte Methode gefunden werden. Die Filter sind nach der Trocknung stets ohne unerwünschte Rückstände. Die Streuungen der Einzelwerte sind sehr gering.

#### b) Glukose

Die Methode nach BERTRAND (KLEIN 1932) kam in abgeänderter Form zur Durchführung:

Gut abgenutschtes, klares Kulturfiltrat wird bei einem Glukosegehalt von 4 bis 5 % mit destilliertem Wasser auf 1 : 10 verdünnt und 20 ml davon in einen 150-ml-Erlenmeyerkolben gegeben. Dazu kommen je 20 ml BERTRAND-I-Lösung (40 g Kupfersulfat kristallisiert in 1000 ml $H_2O$) und 20 ml BERTRAND-II-Lösung (200 g Seignettesalz und 150 g Stangennatron in 1000 ml $H_2O$). Das Gemisch wird erhitzt und ab Siedebeginn drei Minuten bei kleinem Feuer gekocht. Die überstehende Lösung wird vom roten Kupferoxydulniederschlag in einen gesinterten Glasfilter-Goochtiegel G 4 dekantiert. Mitgießen des Niederschlags ist möglichst zu vermeiden. Die Flüssigkeit wird im Vakuum abgesogen, jedoch nicht bis zur Trockene, um eine Oxydation des Kupferoxyduls zu verhindern.

Mit kaltem destilliertem Wasser wird der Niederschlag im Kolben dreimal nachgewaschen und durch den Goochtiegel dekantiert.

Etwa 10 bis 20 ml BERTRAND-III-Lösung (50 g Ferrisulfat + 200 ml Schwefelsäure konzentriert in 1000 ml Wasser) werden in den Erlenmeyer gegeben und damit der Kupferoxydulniederschlag aufgelöst (Grünfärbung). Nach Umgießen des Kolbeninhaltes in den Goochtiegel und Auflösen eventuell darin vorhandener Kupferoxydulbestände in diesem wird am Vakuum abgesaugt. Kolben und Tiegel sind gut mit Wasser nachzuwaschen. Das ganze Filtrat läßt sich mit n/10 $KMnO_4$ von Hellgrün auf Rosa titrieren.

Mit zunehmendem Myzelwachstum muß die Nährlösung entsprechend weniger verdünnt werden, da der Glukosespiegel sinkt. Genau arbeitet die Methode bei 10 bis 100 mg Glukose/20 ml Testlösung. An Hand der in KLEIN (1932) vorhandenen Tabelle kann der absolute Glukosewert errechnet werden.

### c) Nitrate

Für die Bestimmung von größeren Nitratmengen in Lösungen fehlt bis heute — meines Wissens — eine schnell arbeitende Methode.

Gestützt auf die Angaben der Herren Dr. MÄRKI, chemisches Laboratorium der Stadt Zürich, und AMBÜHL, Assistent an der EAWAG in Zürich, welchen ich für ihren Rat bestens danken möchte, wurde die Nitratbestimmung nach KUISEL in abgeänderter Form wie folgt angewendet:

Bei einem Gehalt von 2000 mg $NO_3'$/Liter Nährlösung werden 8 ml Nährlösung mit einer Vollpipette in einen Meßkolben gegeben und ad 100 ml mit destilliertem Wasser ergänzt.

Zur Oxydierung der organischen Bestandteile werden zu 5 ml der verdünnten Nitratlösung 5 ml ~ n KOH und 5 ml Wasserstoffperoxyd (30 %) gegeben und bis zum Eintritt der Gasbildung auf das Wasserbad gestellt.

Nach Abnahme der Reaktion wird der Inhalt der Glasschalen zur Trockene verdampft, der weiße Rückstand mit 2 ml Phenoldisulfosäure (30 g Phenol und 370 g Schwefelsäure konz., sechs Stunden auf dem Wasserbad stehenlassen) versetzt. Nach Benetzung des ganzen Schaleninnern mit dem Reagens werden die Glasschalen eine Minute auf das Wasserbad gestellt. Nach Abkühlen des Inhalts mit destilliertem Wasser wird die Lösung in Nesslerzylinder gegossen und die Schalen mehrfach mit destilliertem Wasser nachgewaschen.

Zugabe von 15 ml Ammoniaklösung 10 % (220 ml $NH_4OH$ konz. ad 500 ml mit Wasser auffüllen) bewirkt je nach der Quantität der Nitrate eine mehr oder weniger intensive Gelbfärbung, die kolorimetrisch ausgewertet werden kann und an Hand einer Nitrateichkurve absolute Werte ergibt.

Die Genauigkeit der Methode steht bei 0,2 mg $NO_3'$/Liter.

### d) Phosphate

Eine von der Firma MAGGI im Kempttal angewendete Methode zur Phosphorpentoxydbestimmung mit Ammonmolybdat konnte hier direkt übernommen werden:

Ein Volumen Nährlösung, das etwa 5 bis 10 mg Phosphorpentoxyd enthält, wird auf dem Wasserbad im Platintiegel zur Trockene verdampft und anschließend zwei bis drei Stunden bei 600° C im Muffelofen verascht.

Die weißen Oxydrückstände werden in 200 ml destilliertem Wasser aufgenommen und 1 ml Schwefelsäure konz. beigefügt.

Nach Erhitzen zum Sieden werden unter gutem Umschwenken in dünnem Strahl 10 ml Reagens folgender Zusammensetzung beigefügt:

a) 50 g Ammonsulfat in 450 ml Salpetersäure (Dichte 1,4) lösen,
b) 150 g Ammonmolybdat in 400 ml Wasser lösen.

b wird langsam unter Schütteln zu a gegossen, bis zur Lösung der ausgefällten Molybdänsäure. Nach Zugabe von 25 ml konz. Ammoniak wird mit Wasser ad 1000 ml ergänzt und die Lösung nach zwei Tagen filtriert.

Nach 15 Minuten dauerndem Sieden und 15 bis 30 Minuten langem Stehenlassen wird der entstandene gelbe Niederschlag durch einen Glasfiltertiegel GOOCH G 3 abgesaugt und einige Male mit kaltem Wasser nachgewaschen.

Der Niederschlag wird mit 5 ml n Natronlauge versetzt, nach Auflösung abgesaugt und mit heißem Wasser nachgewaschen. Die alkalische Lösung kann in der Saugflasche mit n Schwefelsäure und Phenolphthalein als Indikator zurücktitriert werden. 1 ml verbrauchte Natronlauge entspricht 2,84 mg $P_2O_5$.

### e) Chloride

Für ihre Bestimmung kam die Methode nach VOLHARD, abgeändert nach ALEFELD (TREADWELL 1943) mit Silbernitrat und Kaliumrhodanat zur Anwendung.

Die Methode arbeitet zuverlässig, bedarf jedoch einiger Übung, damit der Umschlagspunkt des Indikators genau erkannt werden kann.

## 2. Myzelgewicht, Aktivität und pH-Wert im Zusammenhang mit dem Verbrauch der Glukose, Nitrate, Phosphate und Chloride aus der Nährlösung

### Versuch Nr. 8

### Wie verläuft der Stoffhaushalt der Glukose, Nitrate, Phosphate und Chloride bei einer Standkultur von Stamm M 82 auf $CW_4$-Nährlösung?

In der Einleitung und Problemstellung dieser Arbeit wurde darauf hingewiesen, daß der Pilz *Gibberella fujikuroi* zur Bildung von N-haltigen und N-freien, biologisch wirksamen Verbindungen fähig ist.

Es scheint wichtig, die Veränderung der Ausgangsbedingungen im Stickstoffhaushalt zu kennen. Da bei $CW_4$-Nährlösung dem Pilz als einzige Stickstoffquelle nur das Natriumnitrat zur Verfügung steht, gibt dieser Versuch, bei dem die Nitratmethode angewandt wurde, nur Aufschluß über den Abbau der Ausgangsstoffe. Die Ergebnisse der Gesamtstickstoffbestimmung nach KJEHLDAHL werden in einer späteren Arbeit besprochen.

Mit der Glukosebestimmung kann hier auch nur der Abbau des Kohlehydrat-Grundbausteines erfaßt werden. Ob und wie der Pilz die Glukose direkt ab- oder umbaut, kann dieser Versuch nicht klären.

Für Phosphate und Chloride zeigen die Bestimmungsmethoden bei den ersten den Gesamtbestand des Phosphors im Kulturfiltrat, bei den letzten den Bestand an Chloriden, wobei jedoch andere Salze des Chlors und ihre Bildung durch den Pilz kaum denkbar sind.

Um nicht den Eindruck zu erwecken, daß die Resultate des nachstehenden Versuches durch Streuungsfehler verfälscht werden, wird die Anlage eingehend beschrieben.

Nährlösung: $CW_4$, unter Verwendung analysenreiner, anorganischer Salze; als Reinglukose: Dextropur; Watteextrakt jedoch nicht analysiert.

Kulturgefäße: 500 ml Erlenmeyerkolben, alle aus Jenaer Glas, Wattebäusche alle aus der gleichen rohen Verbandwatte, Volumen genau 100 ml/Kolben, alle Kolben gleichzeitig im gleichen Autoklaven sterilisiert.

Impfmaterial: Sporen aus einer 21 Tage alten Standkultur mit $CW_4$-Nährlösung, gewachsen bei 33 ° C, durch Watte steril filtriert, 10 Millionen Konidien/Kolben.

Inkubation: 35 Tage bei 33 ° ± 1 ° C, alle Kolben auf gleicher Höhe im Raum, zur Vermeidung von Temperaturunterschieden.

Teste: Jeden Tag werden zehn Kolben wahllos im Kulturraum entnommen und aus je zwei Kolben zusammen die Bestimmungen durchgeführt: Myzelgewicht, Glukose und Chloride täglich, Phosphate und Nitrate jeden zweiten Tag. Die *Ustilago*aktivität wurde aus allen zehn Kolben insgesamt geprüft.

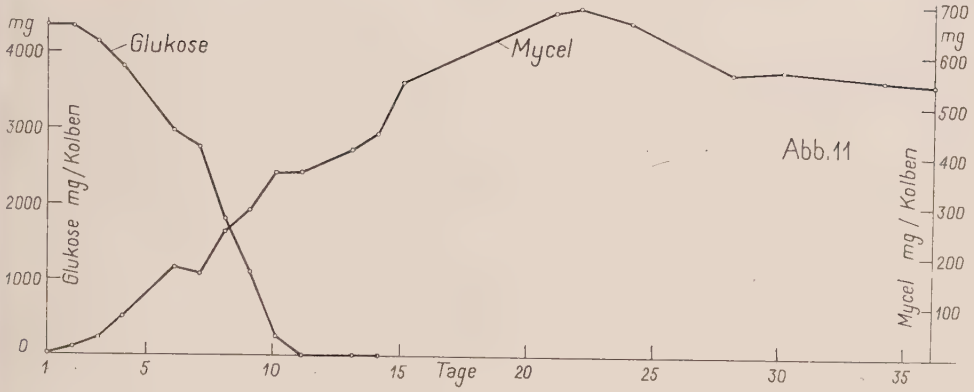
Auf eine Angabe der Nitrate in absoluten Zahlen mußte bei diesem Versuch verzichtet werden, da zu diesem Zeitpunkt die organischen Bestandteile in der Nährlösung mit Kaliumpermanganat oxydiert worden waren. Der trotz Oxalsäurezugabe bis zur Farblosigkeit des Kaliumpermanganats ausgeschiedene Braunstein verblieb nach Filtration zu einem Teil nach dem Abdampfen im Rückstand und hatte eine Verschiebung der Farbintensität nach Zugabe von Phenoldisulfosäure und Ammoniak zur Folge. Da jedoch bei allen Proben immer gleich viel Kaliumpermanganat und Oxalsäure zugegeben und die Farbreaktionen alle zu gleichen Zeitpunkten kolorimetriert wurden, dürfen die relativen gefundenen Werte zum Vergleich geeignet sein.

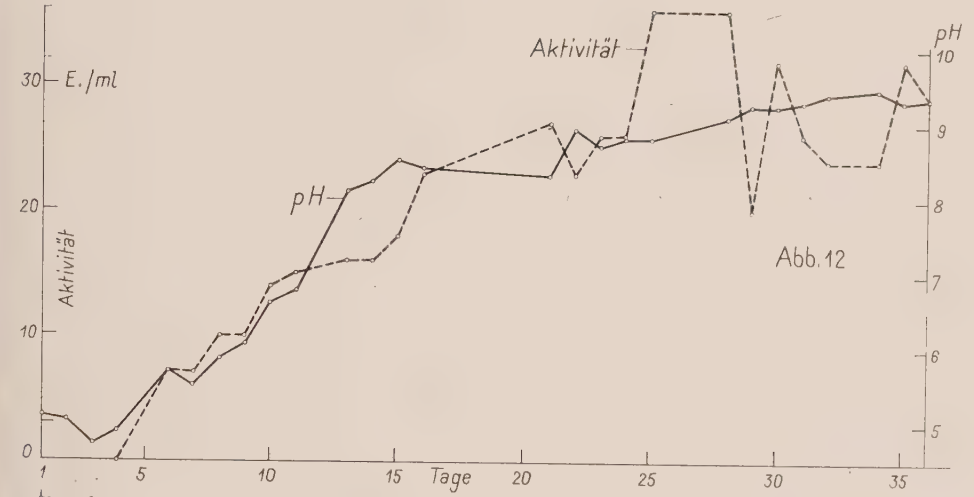
Spätere Nitratbestimmungen in anderen Versuchen kamen mit der Perhydroloxydationsmethode zur Anwendung. Die Meßwerte konnten ohne weiteres aus der Eichkurve in absolute Werte übergeführt werden.

Als Leerwerte dienten Proben aus beimpften, jedoch nicht inkubierten Kulturen. Die Bestandteile des zugegebenen Impfmaterials sind somit mitanalysiert.

Abb. 11, 12 und 13 zeigen den Versuchsverlauf, aus welchem folgende Ergebnisse zu gewinnen sind:

1. Das Myzelgewicht nimmt bis zum 21. Tage zu. Das anschließende Absinken wird auf die starke Autolyse des Zellmaterials zurückgeführt. Aus der Literatur ist bekannt, daß die Autolyse der Zellen schon bei beginnendem Wachstum von Pilzen einsetzt (FOSTER 1949). Trotz Abnahme des Myzelgewichtes können noch neue Zellen gebildet werden. Die Zeit nach dem 21. Tag muß als die Periode angenommen werden, bei welcher die Autolyse über das Wachstum dominiert. Die anfänglich hellgelbe Myzelfarbe ändert damit in graubraun, das Kulturfiltrat von hell- zu dunkelbraun.
2. Die im Leerwert höher als berechnet gefundene Glukose muß auf das Vorhandensein von Glukose im Watteextrakt zurückgeführt werden.
   Bereits am 11. Tage ist keine Glukose im Kulturfiltrat mehr nachweisbar. Das Pilzwachstum schreitet jedoch noch weitere 11 Tage fort. Daraus kann geschlossen werden, daß der Pilz die Glukose zu anderen Kohlenstoffquellen umbaut, mit welchen er nach Aufbrauch der Glukose weiterwächst, oder aus dem Watteextrakt andere Kohlenhydrate beziehen kann.
3. Der pH-Wert nimmt nach dem schon oft beobachteten anfänglichen Absinken zu. Starke Autolyse bewirkt starken Anstieg (20. bis 28. Tag), schwächere Autolyse schwächeren Anstieg.
4. Die *Ustilago*aktivität erreicht, auch bei Wiederholung des Versuches, nach anfänglich kontinuierlichem Ansteigen am 24., 29. und 34. Tage Maximalwerte. Bei Einsatz der starken Autolyse erreicht die Aktivität ihren Höhepunkt. Dieser dürfte auf dem Freiwerden von Toxinen aus den autolysierten Zellen basieren. Demnach sind die frei werdenden *ustilago*aktiven Toxine Endotoxine.
5. Die Nitrate werden bis zum 14. Tage aus dem Kulturfiltrat kontinuierlich abgebaut. Starkes Wachstum bedingt großen Nitratverbrauch, geringeres Wachstum benötigt weniger Nitrate. Nach Beginn der Autolyse nehmen die Nitrate im Kulturfiltrat wieder zu. Sie müssen entweder als solche teilweise in der Pilzzelle eingelagert gewesen sein, oder durch die Autolyse sind Stickstoffverbindungen wieder zu Nitraten abgebaut worden.



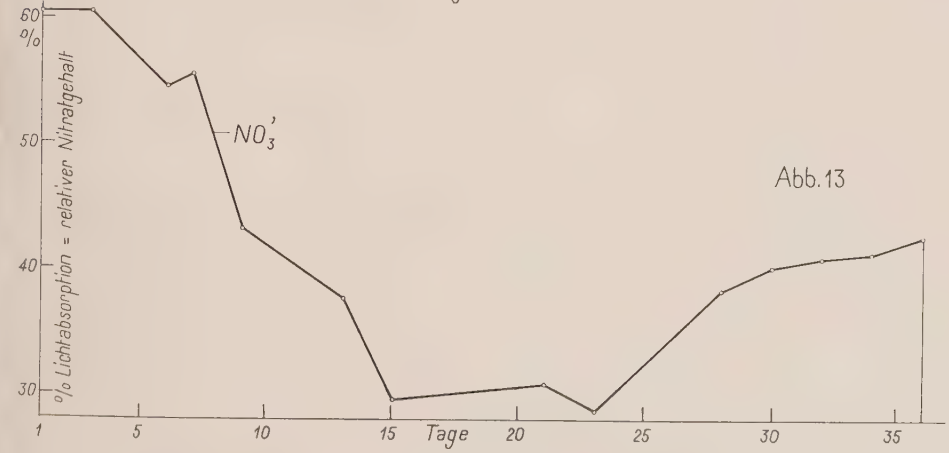




Abb. 11, 12 und 13. Myzelgewicht, pH-Wert und *Ustilago*aktivität einer Czapek$_4$-Watte-extrakt-Standkultur von *Gibberella fujikuroi* im Zusammenhang mit dem Stoffwechsel

Abb. 11. Myzelgewicht und Glukose
Abb. 12. pH-Wert und *Ustilago*aktivität
Abb. 13. Nitrate (als relative Werte auf Grund kolorimetrischer Bestimmung)

6. Starker pH-Anstieg vor der Autolyse geht parallel zu starkem Nitratabbau (6. bis 14. Tag). Bei schwachem Nitratverbrauch bleibt der pH-Wert konstant. Der pH-Anstieg könnte als Freiwerden von Ammoniak gedeutet werden.
7. Die Chloride zeigen beim ganzen Versuch mehr oder weniger konstante Verhältnisse. Die Untersuchung der Chloride war durchgeführt worden, weil bei Vorversuchen unter Weglassen einzelner Nährkomponenten beobachtet wurde, daß ohne Chloride der Pilz sehr spärlich wächst. *Gibberella fujikuroi* benötigt demnach Chlor nur in „Spuren".
8. Der Phosphorspiegel blieb über die ganze Versuchsdauer mehr oder weniger konstant. Bei der Genauigkeit der Methode und der sehr geringen Streuung der Einzelwerte hätte eine Ab- und Zunahme des Phosphors erfaßt werden können. Es ist kaum denkbar, daß *Gibberella fujikuroi* keinen Phosphor benötigt. Möglich wäre, daß durch die Autolyse stets gleiche Mengen Phosphor frei würden, wie zum Aufbau neuer Zellen benötigt werden.
9. Sämtliche Faktoren weisen am fünften und neunten Tage Schwankungen im normalen Kurvenverlauf auf. Sie sind auf Grund des Absinkens der Kulturraumtemperatur durch Stromunterbrechungen entstanden. Da alle fünf untersuchten Faktoren sich gleichsinnig verhalten, ist damit ein Hinweis für die Genauigkeit und Empfindlichkeit der Versuchsmethodik gegeben.

Wiederholungen des Versuches bestätigen im wesentlichen die hier beschriebenen Ergebnisse. Nährstoffverbrauch und Wachstumsgeschwindigkeit von *Gibberella fujikuroi* sind von der Menge und der Vorgeschichte des Impfmaterials abhängig.

Versuch Nr. 9

Wie verhalten sich die in Versuch Nr. 8 genannten Faktoren in der Schüttelkultur auf $C_4$ und $Ri_5$-Nährlösung?

Bei sonst gleicher Versuchsanordnung und gleichen Testbedingungen wie im vorher beschriebenen Versuch wurden beimpfte Erlenmeyerkulturen während 14 Tagen auf einer rotierenden Schüttelmaschine inkubiert und jeden Tag sechs Erlenmeyer aus beiden Serien geprüft.

---

Abb. 14, 15, 16, 17, 18, 19. Myzelgewicht, pH-Wert und *Ustilago*aktivität einer $Ri_5$- und $C_4$-Schüttelkultur von *Gibberella fujikuroi* im Zusammenhang mit dem Stoffwechsel

Abb. 14. Myzelgewicht und Glukose bei CZAPEK$_4$-NL
Abb. 15. pH-Wert und *Ustilagoaktivität* bei CZAPEK$_4$-NL
Abb. 16. Nitrate bei CZAPEK$_4$-NL
Abb. 17. Myzelgewicht und Glukose bei RICHARD$_5$-NL
Abb. 18. pH-Wert und *Ustilago*aktivität bei RICHARD$_5$-NL
Abb. 19. Nitrate bei RICHARD$_5$-NL

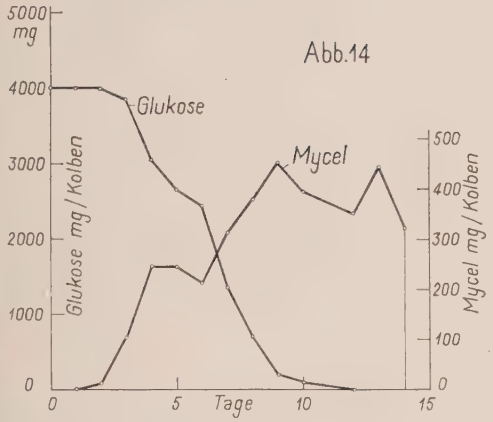


Abb. 14
Glukose
Mycel
Glukose mg / Kolben
Mycel mg / Kolben
Tage

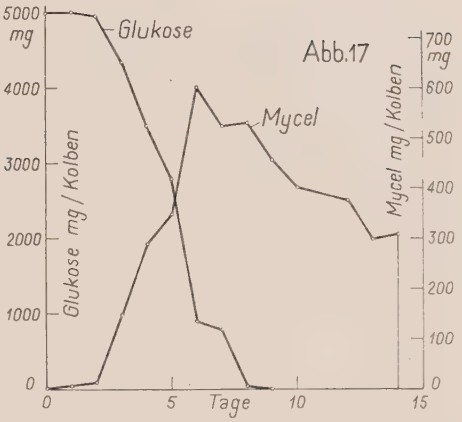


Abb. 17
Glukose
Mycel
Glukose mg / Kolben
Mycel mg / Kolben
Tage

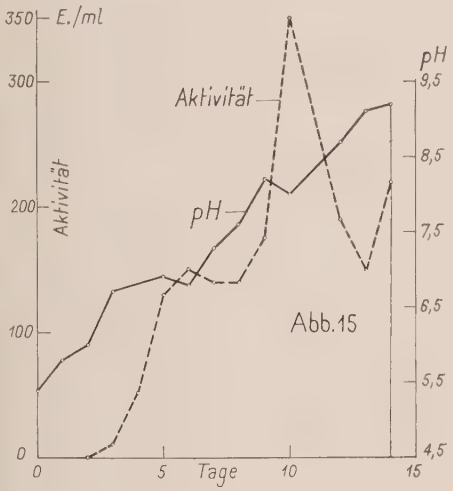


Abb. 15
Aktivität
pH
E./ml
Tage

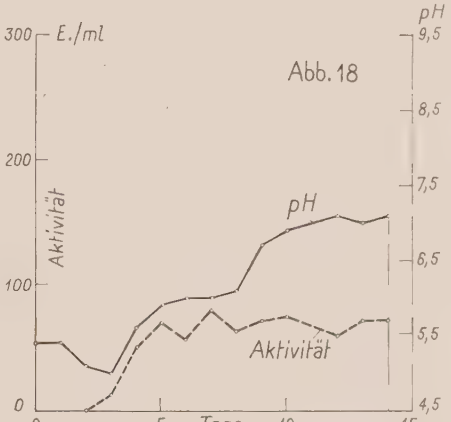


Abb. 18
pH
E./ml
Aktivität
Tage

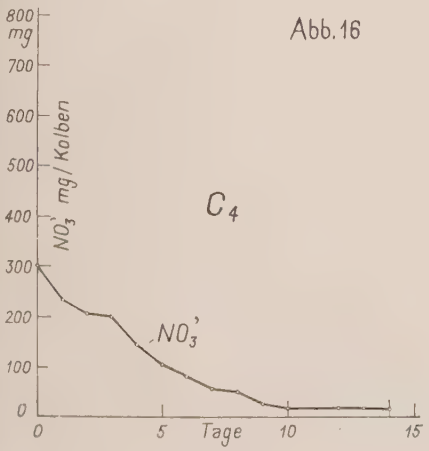


Abb. 16
C4
NO3' mg / Kolben
Tage

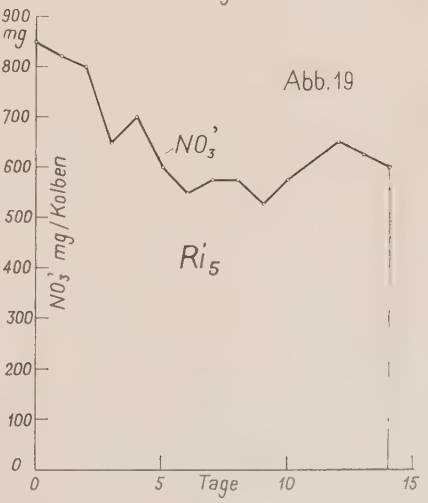


Abb. 19
Ri5
NO3' mg / Kolben
Tage

Die geringere Anzahl von Parallelen (nur je drei pro Serie) und die Kürze der Versuchsdauer beruht auf Platzmangel auf der Schüttelmaschine. Da jedoch erfahrungsgemäß der Stoffumsatz in der Schüttelkultur viel schneller verläuft als in der Standkultur, darf die Zeitspanne von 14 Tagen als ausreichend angenommen werden.

Die Czapeknährlösung mußte ohne Watteextrakt verwendet werden, da vom schon früher beschriebenen Ausbleiben der Aktivität bei $CW_4$-Schüttelkultur abgesehen, die Zugabe von Watteextrakt in der Schüttelkultur zu einer Verschleimung des Myzels führt. Innerhalb nutzbarer Frist können die Myzelien dann nicht mehr abfiltriert und gewaschen werden. Vorversuche zeigten, daß das Waschen eines einzelnen Myzels einen ganzen Tag benötigt.

Aus den Abb. 14 bis 19 werden folgende Ergebnisse dieses Versuches abgelesen:

1. Bei $C_4$ erreicht der Pilz am neunten, bei $Ri_5$ schon am sechsten Tage ein Wachstums-Maximum. Die Autolyse verläuft bei $Ri_5$ wesentlich rascher. Der Wachstumsstillstand von $C_4$ vom vierten bis sechsten Tage fällt mit einem steilen Aktivitätsanstieg zusammen. Vielleicht hemmt das freigewordene Toxin den Pilz in seinem Wachstum.
2. Entsprechend dem langsameren Wachstum bei $C_4$ verläuft auch der Glukoseabbau weniger rasch als bei $Ri_5$.
3. Entgegen dem Ergebnis der Standkultur wächst der Pilz in Schüttelkultur ohne Glukose nicht mehr weiter. Die Autolyse setzt mit dem Wegfall der Glukose sofort stark ein.
4. Bei gleichen Ausgangsgrößen steigt der pH-Wert bei $C_4$ steiler an und stellt sich höher ein als bei $Ri_5$.
5. Am zehnten Tage, nach Einsatz der starken Autolyse, erreicht die *Ustilago*aktivität bei $C_4$ ihr Maximum. Wenn auch zeitlich verschoben, liegen somit gleiche Verhältnisse wie bei der Standkultur vor.

   $Ri_5$ hat am 5., 7., 10. und 13. Tage Maximalwerte der Aktivität. Der höchste Wert deckt sich zeitlich mit dem Einsatz der Autolyse (Abnahme des Myzelgewichts) am siebenten Tage. Die Aktivität stellt sich bei $Ri_5$ schneller ein, erreicht jedoch nur den fünften Teil der Aktivität bei $C_4$.
6. Die *Ustilago*aktivität übertrifft in der Schüttelkultur die Standkultur beträchtlich.
7. $Ri_5$-Nährlösung enthält außer dem Nitrat- auch Ammonstickstoff. Die zackig verlaufende Nitratkurve bei $Ri_5$ beruht nicht auf Streuungen der Einzelwerte, sondern dürfte durch

das Vorhandensein von zwei verschiedenen Stickstoffquellen bedingt sein.

8. Nitrate benötigt der Pilz bei beiden Nährlösungen in gleichen Mengen. Der im vorangehenden Versuch beobachtete Anstieg der Nitrate nach der einsetzenden Autolyse findet sich auch bei $Ri_5$, obschon in geringerem Maße.
9. Bei $C_4$ werden die Nitrate kontinuierlich und nicht schubweise abgebaut. Sie bleiben nach einsetzender Autolyse unverändert und zeigen keinen Anstieg.

## Diskussion

Die Ergebnisse der Stoffwechseluntersuchungen an *Fusarium lycopersici* (Luz 1934) und *Gibberella fujikuroi* (unsere Versuche) stimmen, soweit Versuchsanlage und Fragestellung gleich waren, weitgehend überein.

Das Weiterwachsen von Standkulturen von *Gibberella fujikuroi* nach dem Verbrauch der Glukose wäre durch Aethylalkohol als Kohlenstoffquelle erklärbar (Luz 1934). Dieser entsteht bei der anaeroben Vergärung der Glukose infolge $CO_2$-Stauung im Kulturgefäß durch schlechten Gasaustausch bei der Standkultur.

Die besser durchlüftete Schüttelkultur zeigt Wachstumsstillstand nach Aufbrauch der Glukose auf Grund totaler Veratmung des Kohlenhydrats bei aeroben Bedingungen.

Die Zunahme der Nitrate bei Einsatz starker Autolyse läßt folgende Vermutungen zu:

a) Die in der Zelle als solche eingelagerten Nitrate werden durch die Autolyse frei.
b) Durch Fermentsysteme können Aminoverbindungen wieder in Nitratstickstoff verwandelt werden.

Der Watteextrakt als Zugabe zur Czapek-Schüttelkultur verursacht das Ausbleiben der *Ustilago*aktivität. Diese Tatsache könnte darauf beruhen, daß die Wachstumsbedingungen für den Pilz optimal sind, so daß es nicht zur Toxinbildung kommt.

Das langsamere Wachstum der watteextraktfreien, nährstoffärmeren $Czapek_4$-Kultur und die dennoch höhere Aktivität als bei $Richard_5$-Kultur könnten darauf beruhen, daß „schlechte" Wachstumsbedingungen die Bildung von sekundären Pflanzenstoffen fördern. Sekundäre Pflanzenstoffe entstehen aus primären. Biochemische Vorgänge, welche zur Bildung von sekundären Pflanzenstoffen führen, basieren meist auf Dissimilationsvorgängen, wie Decarboxylierungen,

Hydrierungen (sogar bis zu Kohlenwasserstoffen) und fortschreitenden Dehydrierungen.

Die Überführung von Fusarinsäure zur Dehydroverbindung und umgekehrt wäre daher als Dissimilationsprozeß zu deuten.

Die Aktivitätsmaxima und -minima erklären sich als das Ergebnis fortschreitender Hydrierungs-, Dehydrierungs- oder Decarboxylierungs-Prozesse, die zu stärker oder schwächer biologisch wirksamen Substanzen führen.

Das fraktionierte Auftreten der Toxine wird im unspezifischen *Ustilago*test durch die Aktivitätsmaxima zu verschiedenen Zeiten ausgedrückt. Der spezifischere Welketest ist mit Kulturfiltraten nicht durchführbar, da ohne Verdünnung der Kulturlösung auf 1:5 ihre Nährsalze das Welkebild verändern und dadurch gleichzeitig die molare Konzentration des Toxins unter die Dosis minima gelangt. Eine tägliche Aufarbeitung von Kulturproben mit anschließendem Welketest könnte die Hypothese der zeitlich verschiedenen Toxinbildung unterbauen. Eine Umgehung der Aufarbeitung von Kulturproben wäre die Befreiung der Nährlösung von ihren anorganischen Salzen durch Ionenaustausch und ließe eine Verdünnung des Kulturfiltrats vermeiden.

Die Identität der biologischen Wirksamkeit von synthetischer und natürlicher Fusarinsäure ist unbestritten. Eine Unsicherheit besteht jedoch in bezug auf die Schmelzpunkte: Bei Umkristallisation der beiden Verbindungen aus Hexan schmilzt die natürliche Fusarinsäure (105 bis 107°) höher als synthetische Fusarinsäure (97 bis 99°). Obschon die Löslichkeit und Kristallform praktisch identisch sind, besteht dennoch die Möglichkeit, daß zwei sehr ähnliche Isomere vorliegen oder, daß dem einen Präparat ein Isomeres oder auch schwer abzutrennende Verunreinigungen beigemengt sind.

## Zusammenfassung

1. Infektionsversuche mit *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Woll. an Reispflanzen verlaufen positiv, und es gelingt auf diese Weise, den Bakanaëeffekt zu erzeugen.
2. Das Wachstumsoptimum des Pilzes bei „in vitro"-Kultur auf RICHARD$_5$-Agar liegt zwischen 24 und 30° C, das Produktionsoptimum der Toxine auf RICHARD$_5$-Nährlösung bei 33°.

   Der Temperaturanstieg von 33 auf 37° bewirkt starke Wachstumshemmung.

3. Der pH-Wert zeigt bei Kulturversuchen zwei Tendenzen:
   a) Absinken bei Kulturbeginn bis zum dritten Tage.
   b) Daran anschließend kontinuierlicher Anstieg.
4. Zugabe von Watteextrakt zur CZAPEK$_4$-Nährlösung bewirkt stark gefördertes Wachstum in der Stand- und Schüttelkultur. Standkultur zeigt wenig, Schüttelkultur keine Aktivität.
   CZAPEK$_4$-Nährlösung ohne Watteextrakt erzeugt im Schüttelversuch eine fünfmal stärkere Aktivität als die nährstoffreichere RICHARD$_5$-Nährlösung.
5. Das Hauptmaximum der *Ustilago*aktivität wird erreicht, wenn das Myzelgewicht durch starken Autolyseneinsatz des Zellmaterials abnimmt. Demnach werden die Toxine in den Zellen des Pilzes gebildet und bei Zersetzung durch Autolyse frei. Die Toxine können als Endotoxine bezeichnet werden.
6. Der Stoffwechsel von *Gibberella fujikuroi* wurde untersucht und Methoden zur Bestimmung des Myzelgewichts, der Glukose, Nitrate, Phosphate und Chloride wurden beschrieben.
7. *Gibberella fujikuroi* kann in der Standkultur nach Aufbrauch der Glukose weiterwachsen, in der Schüttelkultur jedoch fallen Wachstumsmaximum und Glukoseminimum zusammen.
8. Es wird ein Reistest zur Prüfung gibberellinhaltiger Extrakte beschrieben. Diese bewirken eine 20%ige Längenzunahme von Reispflanzen.
9. Aus Kulturfiltraten konnte Fusarinsäure (Smp. 107 bis 108 °) rein dargestellt werden.
10. Das aus *Fusarium lycopersici* Sacc. bekannte Welketoxin Vasinfuscarin findet sich auch bei *Gibberella fujikuroi*.
11. Als neues Welketoxin von *Gibberella fujikuroi* wurde Dehydrofusarinsäure (Smp. 118 bis 120 °) gefunden.
12. Die Hauptsymptome der neuen Substanz im Welketest mit abgeschnittenen Tomatensprossen sind:
    Gelbe Verfärbungen der Blattspreiten und Nekrosen an den Blatträndern, sowie Schrumpfungen des Stengels, bei gleich hoher Aktivität wie Fusarinsäure. Im *Ustilago*sporenkeimungstest liegt die Aktivität tiefer als bei Fusarinsäure.
13. Hydrierung der Dehydrofusarinsäure mit 1 Mol Wasserstoff führt zu einer gleichschmelzenden Verbindung (101 bis 103 °C) wie synthetische Fusarinsäure. Sie darf als mit dieser identisch angenommen werden.

## Literaturverzeichnis


BALDACCI, E., 1945: Ricerche ed esperienze sulle malattie del riso. Atti Ist. Bot. „Giovanni Briosi" e Crittogamico Ital. Univ. Pavia, **5** (5), 190—274.

— —, 1946: La présence en Italie de *Fusarium moniliforme* sur le riz et sa signification phytopathologique. Internat. Bull. Plant. Prot., **20**, 1—2.

BAZZIGHER, G., 1953: Beitrag zur Kenntnis der *Endothia parasitica* (Murr.) And., dem Erreger des Kastaniensterbens. Phytopath. Z. **21**, 105—32.

BOLLER, A., 1951: Über Lykomarasmin, ein welkaktives Stoffwechselprodukt aus *Fusarium lycopersici* Sacc. Diss. ETH. Nr. 2047.

CLAUSS, H., 1952: Kritische Untersuchungen über den Kressewurzeltest von MOEWUS. Z. Naturf., **7b**, 112—17.

ETTLINGER, L., 1946: Zur kulturellen Gewinnung von Penicillin. Ber. Schweiz. Bot. Ges., **56**, 681—95.

FOSTER, J. W., 1949: Chemical Activities of Fungi. Academic Press Inc., Publishers New York, N. Y.

GÄUMANN, E., 1949: Die Pilze, Grundzüge ihrer Entwicklungsgeschichte und Morphologie. Verlag Birkhäuser, Basel.

— —, 1951 a: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl., Verlag Birkhäuser, Basel.

— —, 1951b: Neuere Erfahrungen mit Welketoxinen. Experientia, **7**, 441—447.

— —, NAEF-ROTH, ST. et KOBEL, H., 1952 a: L'acide fusarique, une seconde toxine de flêtrissement produite par *Fusarium lycopersici* Sacc. C. r. Ac. Sc. Paris, **234**, 173—174.

— —, — — et — —, 1952 b: Les synergismes chez les toxines de *Fusarium lycopersici* Sacc. l. c. **234**, 276—278.

— —, — — und — —, 1952c: Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z., **20**, 1—38.

— —, — — und MIESCHER, G., 1950: Untersuchungen über das Lycomarasmin. l. c., **16**, 257—88.

— —, STOLL, CH. und KERN, H., 1953: Über Vasinfuscarin, ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. l. c., **20**, 345—347.

HAYASHI, T., 1940a: Biochemical studies of bakanaë fungus on rice: V. Effect of Gibberellin on growth, fermentation and size of yeast cells. J. Agr. Chem. Soc. Japan, **16**, 386—88.

— —, 1940b: Biochemical studies of bakanaë fungus on rice: VI. Effect of Gibberellin on the activity of amylase in germinated cereal grains. l. c., **16**, 531—538.

— — und MURAKAMI, Y., 1953a: The biochemistry of bakanaë fungus: XXIX. The physiological action of Gibberellin. V. The effect of Gibberellin on the straight growth of etiolated pea epicotyl sections. l. c., **27**, 675—680.

— — and — —, 1953 b: The biochemistry of bakanaë fungus: XXX. The physiological action of Gibberellin. V. The effect of Gibberellin on the straight growth of isolated section of cereal grass coleoptiles. l. c., **27**, 797—801.

— —, TAKIJIMA, Y. und MURAKAMI, Y., 1953: The biochemistry of bakanaë fungus: XXVIII. The physiological action of Gibberellin. l. c., **27**, 672—675.

IMURA, J., 1937: The alcoholic fermentation of *Gibberella fujikuroi*, the causal fungus of the bakanaë disease of the rice plant and its relation to pathogenicity. Forsch. Pflkr. Kyoto, **3**, 289—309. ref.: Rev. appl. Mycology, **17**, 769—70.

KAWARADA, A., SETA, Y., TAKAHASHI, N., OTSUKI, T. und SUMIKI, Y., 1953: The biochemistry of bakanaë fungus: XXVII. The production of Gibberellin by submerged cultures (3). J. Agr. Chem. Soc. Japan, **27**, 545—49.

KERN, H., 1952: Über die Beziehungen zwischen dem Alkaloidgehalt verschiedener Tomatensorten und ihrer Widerstandsfähigkeit gegen das *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z., **19**, 351—82.

KLEIN, G., 1932: Handbuch der Pflanzenanalyse. Julius Springer, Berlin.

KOBEL, F., 1951: Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. Phytopath. Z., **18**, 157—95.

Luz, G., 1934: Über den Stoffwechsel von *Fusarium lycopersici* und *Fusarium lini*. l. c., **7**, 585—638.

Linder, A., 1945: Statistische Methoden. Verlag Birkhäuser, Basel, 150 S.

Moewus, F., 1949a: Der Kressewurzeltest, ein neuer quantitativer Wuchsstofftest. Biol. Zbl. **68**, 118—140.

— —, 1949b: Die Wirkung von Wuchs- und Hemmstoffen auf die Kressewurzel. l. c. **68**, 58—72.

— —, 1951: Über die Anwendung des Kressewurzeltestes. Ber. deutsch. Bot. Ges., **54**, 212—14.

— —, Moewus, L. und Skwarra, H., 1952: Nachweis von zwei Wuchsstoffen in Samen und Wurzeln der Kresse. Planta, **40**, 254—264.

Nishikado, Y. und Hiroyoshi, M., 1933: Studies on the physiological specialisation of *Gibberella fujikuroi*, the causal fungus of the rice-"Bakanaë"-disease. Trans. Tottori Soc. Agric. Science, **4**, 200—11.

— —, Matsumoto, H. und Yamauti, K., 1933a: Reports on the physiological specialisation of *Fusarium*. I. On the differentiation of the pathogenecity among the strains of rice-"Bakanaë"-fungus. Ber. Ohara Inst. landw. Forsch., **6**, 113—30.

— —, — — und — —, 1933b: Reports on the physiological specialisation of *Fusarium*. II. Temperature relations to the growth of the rice-"Bakanaë"-fungus. l. c., **6**, 131—147.

— —, — — und — —, 1934: Comparative studies of two rice-fungi: The Foot-Rot-Fungus and the „Bakanaë"-Fungus in Japan. l. c. **6**, 449—465.

— — und Kimura, K., 1939: The pathological anatomy of rice plants affected by *Gibberella fujikuroi*. l. c., **8**, 421—426.

— — und Miyawaki, Y., 1944: *Fusarium* disease of cotton bolls. Rept. Ohara Agric. Inst., **36**, 417—50.

Plattner, Pl., Keller, W. und Boller, A., 1954: Die Konstitution und Synthese der Fusarinsäure. Helv. Chim. Acta., **37**, 1379—92.

Seta, Y. und Sumiki, Y., 1952: The biochemistry of bakanaë fungus: XXVI. The chemical constitution of Gibberellin, Part 6. J. Agr. Chem. Soc. Japan, **26**, 508—09.

Seto, F., 1928: The reaction of rice seedlings to infection of the causal fungus of the "Bakanaë"-disease and to filtrate of its cultures. Mem. College Agric. Kyoto Imp. Univ., **7**, 23—28.

— —, 1932: Experimentelle Untersuchungen über die hemmende und die beschleunigende Wirkung des Erregers der sog. „Bakanaë"-Krankheit, *Lisea fujikuroi* Saw., auf das Wachstum der Reiskeimlinge. l. c., **18**, 1—23.

— —, 1933a: Über das verschiedene Verhalten der Reiskeimlinge bei der „Bakanaë"-Krankheit (Vorl. Mitt.). Forsch. a. d. Gebiete der Pfl.krankh., **2**, 20—29.

— —, 1933b: Untersuchungen über die „Bakanaë"-Krankheit der Reispflanzen. III. Über die Beziehungen zwischen der Bodenfeuchtigkeit und dem Krankheitsfall bei Bodeninfektion. l. c., **2**, 125—137.

— —, 1933c: Untersuchungen über die „Bakanaë"-Krankheit der Reispflanzen. IV. Über die Beziehungen zwischen der Bodentemperatur und dem Krankheitsbefall bei Bodeninfektion. l. c., **2**, 138—153.

— —, 1935: Beiträge zur Kenntnis der „Bakanaë"-Krankheit der Reispflanze. Mem. Coll. Agricult. Kyoto Imp. Univ., **36**, 1—81.

Sumiki, Y., 1952: The biochemistry of bakanaë fungus: XXV. The physiological action of Gibberellin (III). J. Agr. Chem. Soc. Japan, **26**, 393—97.

Schopfer, W. H. et Rytz, W. jr., 1937: La ouate comme source de facteur de croissance de microorganisme. Arch. Microbiol., **8**, 244—48.

Tamari, K., 1948: Biochemical studies of bakanaë fungus on rice: XIX. Synthesis of fusarinin. J. Agr. Chem. Soc. Japan, **22**, 16—17.

— — und Morino, K., 1948: Biochemical studies of bakanaë fungus: XX. Synthesis of fusarinin. l. c., **22**, 18.

Treadwell, F. P., 1943: Kurzes Lehrbuch der analytischen Chemie. 11. Auflage, Wien. Franz Deuticke.

Wikén, T., 1946: Studies on the effect of a glass factor upon the formation of antibiotic substance by a member of the *Penicillium chrysogenum* Thom series. Ark. Bot., **33 A** (3), 1—44.

Wollenweber, H. W. und Reinking, O. A., 1935: Die Fusarien. Berlin, 355 S.

Yabuta, T. und Hayashi, T., 1939: Biochemical studies of bakanaë fungus on rice: II. Isolation of Gibberellin, the active principle, which produces slender rice seedlings. J. Agr. Chem. Soc. Japan, **15**, 257—66.

— — and — —, 1940 a: Biochemical studies of the bakanaë fungus: III. Physiological action of Gibberellin on the plants. l. c., **15**, 403—413.

— — and —n—, 1940 a: Biochemical studies of bakanaë fungus: III. Physiological action Sta. Japan, **3**, 365—400.

— —, Kambe, K. und Hayashi, T., 1934: Biochemical studies of bakanaë fungus on rice: I. Fusarinic acid, a new product of the bakanaë fungus. J. Agr. Chem. Soc. Japan, **10**, 1059—68.

— — und Sumiki, Y., 1942: Biochemical studies of bakanaë fungus: XIV. The effect of Gibberellin on animal tissue culture. l. c., **18**, 207—208.

— — und — —, 1944: Biochemical studies of bakanaë fungus: XVIII. Action of Gibberellin on the growth of buds of *Paulownia tomentosa*. l. c., **20**, 52.

Yabuta, T., Sumiki, Y. und Aso, K., 1951c: Biochemical studies of bakanaë fungus: XXIII. The chemical constitution of Gibberellin. l. c. **25**, 159—160.

— —, — —, — — und Hayashi, T., 1941f: Biochemical studies of bakanaë fungus: XIII. The effect of Gibberellin on special components and special tissues of plants. 4. Action of Gibberellin on tobacco seedlings. l. c., **17**, 1001—1004.

— —, — —, — —, Tamura, T., Igarashi, H. und Tamari, K., 1941 c: Biochemical studies of bakanaë fungus on rice: X. The chemical constitution of Gibberellin. l. c., **17**, 721—30.

— —, — —, — —, — —, — — und — —, 1941d: Biochemical studies of bakanaë fungus: XI. The chemical constitution of Gibberellin. l. c., **17**, 894—900.

— —, — —, — —, — —, — — und — —, 1941e: Biochemical studies of bakanaë fungus: XII. The chemical constitution of Gibberellin. l. c., **17**, 975—984.

— —, — —, Fukunaga, K. und Horiuchi, M., 1951a: Biochemical studies of bakanaë fungus: XXI. The action of ultraviolet rays on Gibberellin. l. c., **24**, 395—396.

— —, — —, — — und — —, 1951b: Biochemical studies of bakanaë fungus: XXII. Chemical composition of rice seedlings treated. l. c., **24**, 396—397.

— —, — —, Katayama, E. und Motoyama, H., 1940: Biochemical studies of bakanaë fungus: VII. The cultivation condition for producing Gibberellin. l. c., **16**, 1157—1158.

Yabuta, T., Sumiki, Y., Murayama, N. und Suzuki, K., 1941 a: Biochemical studies of bakanaë fungus: VIII. The effects of Gibberellin on special components and special tissues of plants. 3. The effects of Gibberellin on the components of soya-bean malt. l. c., **17**, 527—528.

— —,— — und Takahashi, T., 1943b: Biochemical studies of bakanaë fungus: XVI. The effects of Gibberellin on special components and special tissues of plants. 4. Action of Gibberellin on tobacco seedlings. l. c., **19**, 396.

— —, — —, Tamari, K. und Koizumi, Ch., 1943a: Biochemical studies of bakanaë fungus: XV. Water culture of rice plants combined with use of Gibberellin and Heteroauxin. l. c., **19**, 244—248.

— —, — —, Tamura, T. und Murayama, N., 1941b: Biochemical studies of bakanaë fungus: IX. Chemical constituents of the fungus. l. c., **17**, 673—676.

— —, — — und Torii, H., 1943c: Biochemical studies of bakanaë fungus: XVII. The effects of Gibberellin on special components and tissues of plants. 6. Action of Gibberellin on tea leaves. l. c., **19**, 396—398.

— —, — — und Uno, S., 1939: Biochemical studies of bakanaë fungus: IV. The cultural condition for producing Gibberellin or Fusarinic acid. l. c., **15**, 1209—1220.

Yatazawa, M. und Sumiki, Y., 1952: The biochemistry of bakanaë fungus: XXIV. The chemical constitution of Gibberellin. (5). l. c., **25**, 503—507.

*Istituto di patologia vegetale di Milano*
*Direttore: Prof. Elio Baldacci*
*Stazione sperimentale di risicoltura di Vercelli*
*Direttore: Prof. Ing. Giovanni Sampietro*

# Il „Carbone" del *Panicum crus-galli* e *Panicum erectum* prodotto da *Sorosporium bullatum* Schroet.

Di

G. Corbetta

*6 Figure*

L'alterazione è stata notata alcuni anni fa nell'Alto Vercellese (Italia). Si presenta sotto forma di piccoli tumori sviluppantisi al posto delle cariossidi, sparsi irregolarmente sulla spiga e avvolti da una membrana verdastra racchiudenti spore libere o aggregate in glomeruli.

Simile alterazione venne descritta la prima volta da Schroeter (1869), in Germania, su *Panicum crus-galli*. Il fungo agente della malattia era classificato come *Sorosporium bullatum*, ma successivamente lo stesso (1887) trasferiva la specie al genere *Tolyposporium*. Winter (1884) ne riporta la descrizione in tedesco, nella Kryptogamen-Flora di Rabenhorst, e la stessa è riportata in latino da Saccardo, nella Sylloge Fungorum, che trascriviamo integralmente:

„Soris atris, plerumque in quaque spica solitariis, ovariicolis, bullan $^2/_3$ m/m. grassam globosam effermantibus; glomerulis spararum variae magnetudinis et formae, 40—90—160^50; sporis ellipticis vel polyedricis, 14—16$_v$ 6—11, diluite olivaceo-brunneis, vix distincte verruculosa punctatis.

Hab. in fructibus *Panici crus-galli* in Germania."

La specie è poi descritta ampiamente da Schellenberg (1911), sempre sotto il genre *Tolyposporium*. L'Autore asserisce che i sori sporiferi sono formati nelle spighette del *P. crus-galli* e contengono glomeruli misuranti circa 120 $\mu$, composti da 30—100 spore poliedriche o più o meno ellittiche, misuranti circa 15 $\mu$, con membrana bruna, leggermente punteggiata da piccole verruche o spine. Il fungo distrugge solo spighette nella spiga; le glume e le glumelle rimangono intatte. La massa di spore è da prima avvolta da una membrana verdastra, risultante dai resti della parete dell'ovario, che succes-

sivamente si rompe e libera le singole spore non più riunite in glomeruli. Come unica pianta ospite l'Autore dà il *P. crus-galli.* CIFERRI (1938), avanza l'ipotesi che il *Tolyposporium bullatum* SCHROET. sia sinonomo di *Sorosporium panici-miliacei* (Pers.) Takah.; però non si pronuncia in modo definitivo, non avendo studiato materiale su *Panicum crus-galli.*

A questo proposito è da notare che BRIOSI e CAVARA, nella loro essicata (1889) citano anche il Giavone (*Panicum crus-galli*) come ospite del *Sorosporium panici-miliacei,* ma tra i sinonimi di questo ultimo non includono *Tolyposporium bullatum.* STEVENSON e JOHNSON (1944) trasferiscono il *S. panici-miliacei* al genere *Sphacelotheca,* facendone la nuova combinazione *Sphacelotheca destruens* (Schl.) Stev. e Joh., senza annoverare *Tolyposporium bullatum* tra i sinonimi.

Anche FISCHER, recentemente, (1951) pone tra i sinonimi di *Tolyposporium bullatum* SCHROET., il *Sorosporium bullatum* SCHROET., ma non *Sorosporium panici-miliacei* e *Sphacelotheca destruens.*

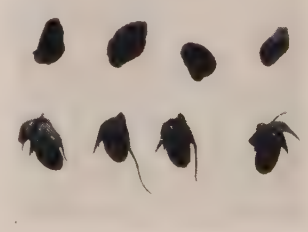
### Sintomatologia dell'Alterazione

Come è già stato rapidamente accennato, l'alterazione si manifesta con la comparsa sulla spiga di piccoli tumori color verdastro, di grandezza variabile, globosi o più o meno allungati e ripieni di spore (sori). È attaccato il *Panicum crus-galli,* ma sopratutto il *P. erectum.* I sori sono disposti molto irregolarmente sulla spiga, in numero da 4—5 a 15—20 (Fig. 1); misurano 1—2 mm di larghezza e 1,5—3 mm e raramente 4 mm di lunghezza. Il soro sporifero occupa esattamente la posizione della cariosside.

1

Fig. 1. Spighe di *Panicum erectum* presentanti sori sporiferi

Le piante colpite non presentano altra alterazione all'infuori della presenza dei sori; lo stato vegetativo e il grado di sviluppo sono normali, anche le glume e le glumelle delle singole spighette colpite sono normali (fig. 2). I sori posseggono una membrana da prima verdastra, poi verde bruno, formata da vari strati di cellule derivanti dai tegumenti dell'ovario. I sori appaiono sulle spighe all'inizio dell'autunno, verso la fine del mese di settem-



2

Fig. 2. Sori sporiferi isolati

bre o nelle prime settimane di ottobre, e giungono a maturazione entro il mese di ottobre o ai primi di novembre. I sori possono staccarsi spontaneamente dalla spiga, ma di solito permangono attaccati alla pianta ospite fino al dissolvimento della membrana che li avvolge.

### Sporogenesi e morfologia delle spore

Il contenuto dei sori è da prima gelatinoso, costituito da masserelle di grosse ife, dalle quali si differenziano poi le clamidospore. Nello stadio successivo il soro è completamente ripieno di clamidospore riunite in glomeruli nerastri, molto irregolari e di dimensioni variabili da 60—211 × 60—280 $\mu$ (fig. 3). Non siamo riusciti, finora, ad osservare la presenza di pareti che dividono i singoli glomeruli.

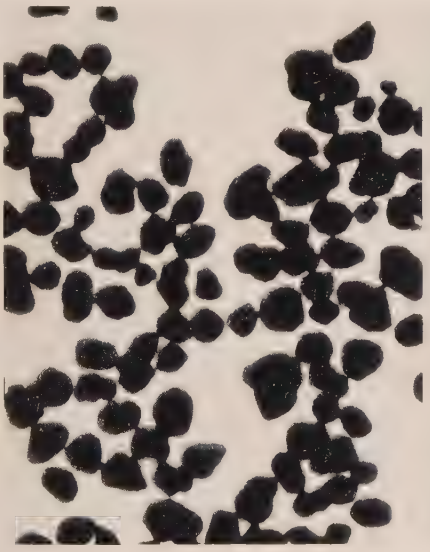


Fig. 3. Stadio iniziale di sporificazione: le spore sono agglutinate in glomeruli (spore balls). Ingrand. 52 ×

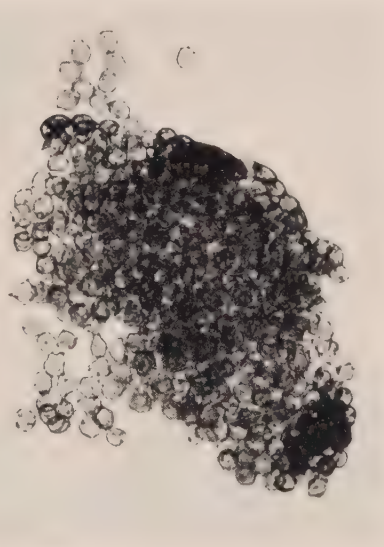


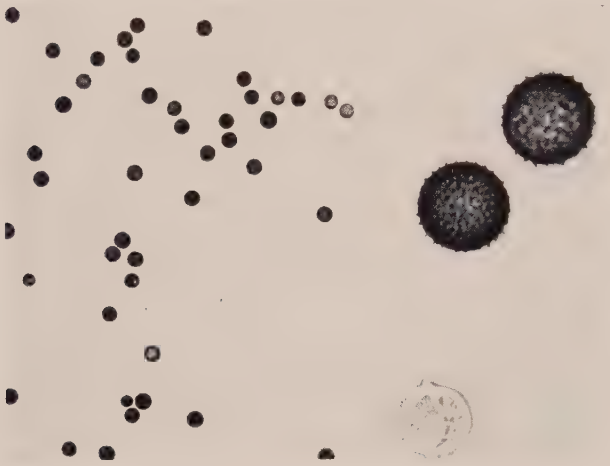
Fig. 4. Glomerulo rotto, mostrante le singole spore poligonali. Ingrand. 900 ×

I glomeruli sono costituiti da un numero variabile di piccole spore color giallo-bruno, strettamente stipate, a contorno poligonale molto irregolare, misuranti 8—10 $\mu$ (fig. 4). Giunto a completa maturità il soro è ripieno di una massa nera, polverosa, costituita da spore indipendenti (fig. 5).

Le singole spore sono perfettamente rotonde, con episporio coperto da un fitto strato di piccole spine (fig. 6). Il colore delle spore mature è nero o giallo-bruno più o meno scuro. Sono pure presenti spore completamente ialine e sprovviste di spine le quali sono normalmente di dimensioni minori;

verosimilmente si tratta di cellule sterili. Le dimensioni delle clamidospore adulte variano da 15 a 32 $\mu$, il valore più frequente è però 20—22 $\mu$.

Quando il soro è maturo, la membrana che lo avvolge si rompe all'apice e lascia cadere le singole spore. Talvolta, nel soro maturo, si trovano spore sciolte nella parte superiore, mentre alla base sono ancora presenti spore agglutinate in glomeruli.



5



6

Fig. 5. Spore mature. Verso il basso a destra sono visibili due cellule sterili. Ingrand. 135 ×

Fig. 6. Spore mature e cellula sterile a forte ingrandimento. Ingrand. 877 ×

**Patogenesi**

Dal fatto che le clamidospore giungono a maturità nel tardo autunno, è probabile che l'infezione avvenga attraverso i tessuti dell'ospite ad opera degli sporidi, prodotti dal promicelio, o dalle gemme originatesi dal micelio delle clamidospore. La modalità di germinazione delle spore è stata studiata da Brefeld e da Schetchell, i quali ottennero, dalle clamidospore, soltanto micelio gemmante, senza la produzione di sporidi.

Nostri tentativi per far germinare le spore in termostato, a 24 $^0$ C., impiegando acqua pura, acqua glucosata, brodo patata glucosato e agarizzato, infuso di terreno, hanno dato finora esito negativo. Non ci è stato possibile accertare con precisione l'epoca di infezione, ma è probabile che avvenga molto presto per cui il micelio si accrescerebbe con la pianta e si localizzerebbe a caso nelle spighette al momento della sporificazione. A conferma di tale ipotesi starebbe il ritrovamento di micelio nei tessuti del culmo dell'ospite a notevole distanza dall'infioriscenza. Difficilmente si verifica l'infezione diretta all'ovario a mezzo degli sporidi portati dal vento, però tale ipotesi non è da escludere completamente.

Negli studi ulteriori ci proponiamo di indagare più a fondo questo importante orgomento.

**Posizione sistematica del fungo**

Abbiamo confrontato il nostro materiale con quello dell'essicata di BRIOSI e CAVARA — descritto su *Panicum miliacei* — e abbiamo osservato

nette differenze. Pertanto non siamo dell'opinione di considerare il nostro fungo come *Sorosporium panici-miliacei* (Pers.) Takah.

Rimane da vedere se il materiale da noi studiato è identico a quello descritto da SCHROETER in Germania come *S. bullatum*. Non abbiamo potuto consultare i lavori originali di questo Autore, ma ci siamo limitati a confrontare la descrizione data da WINTER nel Kryptogamen-Flora di Rabenhorst, e quella data da SCHELLENBERG nella Kryptogamen-Flora der Schweiz.

Le descrizioni riguardanti il modo di presentarsi dell'alterazione sulle spighe coincidono perfettamente con la nostra, come pure coincidono le descrizioni dei sori sporiferi. Anche la descrizione del contenuto dei sori concorda pressocchè interamente con la nostra ad eccezione dell'ultimo stadio di maturazione delle spore in cui, nel nostro materiale, le clamidospore mature sono completamente libere e perfettamente rotonde. Del resto però, anche SCHELLENBERG parla di spore da prima aggregate, che poi vengono disseminate con la rottura delle membrana del soro; si suppone quindi che l'Autore alludesse alla disseminazione delle spore isolate.

Tuttavia l'apparente eccezione può facilmente superarsi pensando a quanto abbiamo detto sulla modalità di maturazione dei sori che, per un certo periodo di tempo, contengono clamidospore agglutinate in glomeruli i quali si sciolgo in singole spore solo a completa maturità. Da ciò si può pensare che SCHROETER esaminò materiale non completamente maturo. Concludendo non ci pare esistano motivi sufficienti per distinguere la specie descritta in Germania, col nome di *Tolyposporium bullatum*, dal campione descritto da noi e riteniamo pertanto di identificare il nostro campione con la specie *Tolyposporium bullatum* SCHR. Poichè il genere *Tolyposporium*, nella diagnosi originaria, è definito con glomeruli che restano agglutinati anche a maturità, non ci sembra legittimo — stando a questo criterio — considerare la specie in questo genere, ma siamo propensi a riportarla al genere *Sorosporium* con la primitiva denominazione datagli da SCHROETER, cioè *Sorosporium bullatum*. Se si vuol seguire le più moderne idee sulla omogeneità del genere Ustilago (cfr. CIFERRI 1953) — che in un certo senso ritornano a quelle più antiche — resterebbe da precisare il nuovo sottogenere. Seguendo la tabella e la chiave riportata da CIFERRI si dovrebbe includere in *Ustosporium;* tuttavia CIFERRI distingue tra i carboni tipo *Sorosporium*, quelli parassitanti le glumiflore da quelli parassitanti le Cariofillacee, sulla base di alcuni caratteri morfologici durante il processo di formazione delle spore. Su alcuni di questi caratteri noi non siamo in grado di pronunciarci, su altri siamo d'accordo (un involucro pseudomembranoso dei glameruli è assente nel nostro campione); su altri dissentiamo (le spore non sono quasi libere fin dal principio ma — al contrario — solo a piena maturità, proprio come per i *Sorosporium* su Cariofillacee). È evidente che noi non possiamo con lo studio di questo unico campione entrare nel merito delle eventuali differenze delle sporagenesi dei *Sorosporium* parassitanti le Cariofillacee e quelli parassitanti le glumiflore.

## Epifitologia

La malattia è molto diffusa nell'Alto Vercellese (Italia) dove abbiamo avuto occasione di notarla frequentemente da vari anni; meno diffusa, ma pure presente, nel basso vercellese. Da comunicazione orale al Prof. BALDACCI, il Prof. PEYRONEL dell'Istituto di Patologia Vegetale dell'Università di Torino, riferì che alcuni anni fa ebbe occasione di vedere materiale simile a quello da noi studiato, inviatogli da una località non precisata del Piemonte. Nelle altre zone risicole del milanese, pavese e novarese, che abbiamo avuto occasione di visitare, non ci è stato ancora possibile accertarne la presenza. Non è però da escludere che la malattia sia presente, seppure in misura limitata, anche nelle altre zone risicole italiane.

## Riassunto

È stato studiato un „carbone" della infiorescenza di *Panicum crus-galli* e *P. erectum.*

Le caratteristiche del materiale studiato si accordono con quelle prodotte da *Sorosporium bullatum* descritto da SCHROETER con il quale è stato identificato.

Sono descritte la sintomatologia della malattia, la sporagenesi e sono fatti brevi accenni alla epifitologia e alla patogenesi.

## Zusammenfassung

Ein auf den Blütenköpfen von *Panicum crus-galli* und *Panicum erectum* vorkommender Brand wird beschrieben.

Die Eigenschaften des untersuchten Materials stimmen mit dem von SCHROETER beschriebenen *Sorosporium bullatum* überein, mit welchem es auch identifiziert wird.

Die Symptomathologie der Krankheit und die Sporogenese werden beschrieben und kurze Angaben über die Epidemiologie und die Pathogenese gegeben.

## Bibliografia

BRIOSI, G. e CAVARA, F.: I funghi parassiti delle piante coltivate od utili, essicati delineati e descritti. Fasc. 3 °—4 °, n. 53, 1889.

CIFERRI, R.: Flora italiana Cryptogama — Ustilaginales. Fasc. 17 pag. 239, 1938.

— —: A Subgeneric Subdivision of the Genus *Ustilago* Rouss. ex Pers. Atti. Ist. Bot. Univ. di Pavia, S. 5, V. X (1), 1953.

CLEMENTS, F. E. and SHEAR, C. L.: The general of fungi, p. 155, 1931.

FISCHER, G. M.: The smut fungi, p. 37 e 98, 1951.

SACCARDO, P. A.: Sylloge Fungorum. 7: pag. 502 e 511, 1888.

SCHELLENBERG, H. C.: Beiträge zur Kryptogamenflora der Schweiz. III, Heft 2, p. 87, 1911.

STEVENSON, J. A. and JOHNSON, A. G.: Phytopathology 34, 613, 1944.

WINTER, G. I.: in Rabenhorsts Kryptogamenflora. I, pag. 104, 1884.

*Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich*
*Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann*

# Über die Wirkung der Fusarinsäure auf den Gaswechsel von Tomaten-Blattgewebe*)

Von

Stephi Naef-Roth und Pierre Reusser

*Mit 5 Abbildungen*

Inhalt: 1. Einleitung — 2. Methodik — 3. Die Wirkung der Fusarinsäure — 4. Die Wirkung der Picolinsäure — 5. Diskussion — Zusammenfassung — Literaturverzeichnis.

## 1. Einleitung

Der Erreger der infektiösen Tomatenwelke, *Fusarium lycopersici* Sacc., bildet in Nährlösungskulturen neben Lycomarasmin als weiteres Welketoxin die Fusarinsäure, eine Pyridincarbonsäure von der Bruttoformel $C_{10}H_{13}O_2N$ (5 n-butyl-Picolinsäure). Das Toxin wurde erstmals aus Kulturen von *Fusarium heterosporum* Nees, einem Erreger der Bakanaëkrankheit des Reises, durch Yabuta, Kambe und Hayashi (1934) isoliert, wird aber auch von *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll., *Fusarium vasinfectum* Atk. und *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. gebildet. In letzter Zeit gelang es Plattner, Keller und Boller (1954) 5 n-butyl-Picolinsäure zu synthetisieren, und wir danken Herrn Prof. Dr. Plattner auch an dieser Stelle bestens für die Überlassung synthetisierter Fusarinsäure zu unseren Versuchszwecken.

In ähnlicher Weise wie Lycomarasmin bewirkt Fusarinsäure Nekrosen in den Blattspreiten von Tomaten und einer Reihe anderer Blütenpflanzen, ruft jedoch zusätzlich auch Schädigungen in den Leitungsbahnen hervor (Gäumann, Naef-Roth und Kobel, 1952). Ferner ist das Welkebild abhängig vom pH der Toxinlösung, indem in saurem Bereiche Stengel- und

*) Die vorliegende Arbeit wurde durch einen Beitrag aus dem schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt. Wir möchten den zuständigen Behörden auch hier unseren Dank wiederholen.

Blattschäden, bei zunehmender Alkalität nur noch Blattschäden auftreten. Da Fusarinsäure als starkes Osmosegift das Plasma von Blattzellen noch in Konzentrationen von $2{,}8 \cdot 10^{-5}$ Mol/l schädigt (GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN, 1952) lag es nahe, den Einfluß des Toxins auf den Gaswechsel von Tomatenblattgewebe zu untersuchen. In der Zwischenzeit wurden uns auch japanische Arbeiten zugänglich, deren Autoren eine atmungshemmende Wirkung der Fusarinsäure auf Reiskeimlinge feststellten (TAMARI und KAJI, 1952), die sie der Fähigkeit des Toxins zuschreiben, mit Schwermetallen Chelate zu bilden.

## 2. Methodik

Als Untersuchungsmaterial diente Blattgewebe von Tomaten der Sorte Tuckswood. Die mittleren Blätter von 30 bis 40 cm hohen, im Gewächshaus gezogenen Tomatenpflanzen wurden abgeschnitten, im Vakuum etwa 15 Minuten mit Brunnenwasser infiltriert, 2 Stunden im Wasser liegengelassen, nach Entfernung der Mittelrippe gewogen und sorgfältig in gleichmäßige Gewebestreifen zerschnitten. Die Infiltration erleichtert die Diffusion des Zusatzstoffes in das Gewebe hinein.

Die Gaswechselmessung geschah nach dem manometrischen Prinzip (WARBURG) im Dunkeln. Jede Versuchsreihe umfaßte 14 Manometer. Jedes Manometergefäß erhielt 450 bis 550 mg infiltriertes Gewebematerial, suspendiert in m/15 oder 2m/15 Phosphatpuffer. Der Beginn der Messung erfolgte nach einer Vorperiode von 15 bis 30 Minuten nach dem Einsetzen in den Thermostaten.

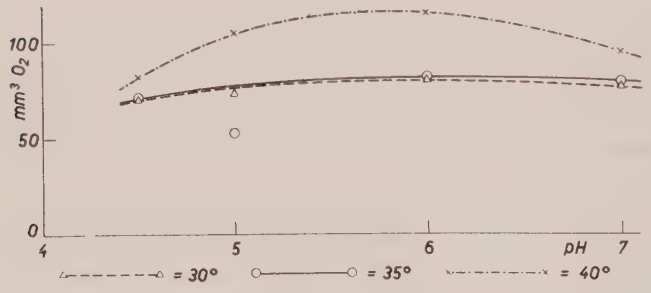



Abb. 1. Die Abhängigkeit der $O_2$-Aufnahme des Tomatenblattgewebes von Temperatur und pH

Abszisse: pH-Wert der Suspensionsflüssigkeit;

Ordinate: $mm^3$ $O_2$. Meßintervall 1 Stunde; Werte aus sechs Versuchsreihen (jeder Punkt gemittelt aus 8 Einzelwerten)

In Vorversuchen wurden die Temperaturbedingungen für die $O_2$-Aufnahme bestimmt und der Einfluß des pH-Wertes der Suspensionsflüssigkeit festgestellt. Aus Abb. 1 ist ersichtlich, daß bei Versuchstemperaturen von 30 und 35 ° C eine Verschiebung der pH-Werte von 4,5 bis 7,0 die Intensität der $O_2$-Aufnahme nur wenig zu beeinflussen vermag. Ein sehr schwaches Optimum liegt bei pH 6. Analoge Beobachtungen machte EICHENBERGER (1952) an Hand von Tabakblättern, bei welchen die $O_2$-Aufnahme in einem pH-Bereich von 4,4 bis 8,0 ungefähr konstant bleibt.

Bei einer Erhöhung der Versuchstemperatur auf 40 ° C ist im Bereich der pH-Werte 5 bis 6 eine Steigerung der Atmung festzustellen. Die Versuche wurden daher bei 35 ° C durchgeführt, wo bei einer hohen Gaswechselintensität der pH-Wert des Milieus keinen Einfluß hat. Das erlaubte, die Fusarinsäure bei verschiedenen pH-Werten, d. h. bei verschiedener Dissoziation, auf ihre Wirkung zu prüfen.

### 3. Die Wirkung der Fusarinsäure

Wird nun der Gewebesuspension bei einer Versuchstemperatur von 35 ° C und einem pH-Wert von 6,0 synthetische Fusarinsäure in den Konzentrationen $2 \cdot 10^{-2}$ Mol/l bis $5 \cdot 10^{-3}$ Mol/l zugesetzt, zeigt sich eine konzentrationsabhängige Verringerung der Intensität der $O_2$-Aufnahme (Abb. 2). Die Kontrollkurven verlaufen beinahe linear. Nach dem Giftzusatz biegen die Kurven langsam ab, wobei sich die Hemmung immer stärker ausprägt. Das langsame Abbiegen wird erstens durch die Diffusion in das Gewebe und zweitens durch die Diffusion in die Zellen verursacht, bis eine Gleichgewichtsphase erreicht ist.

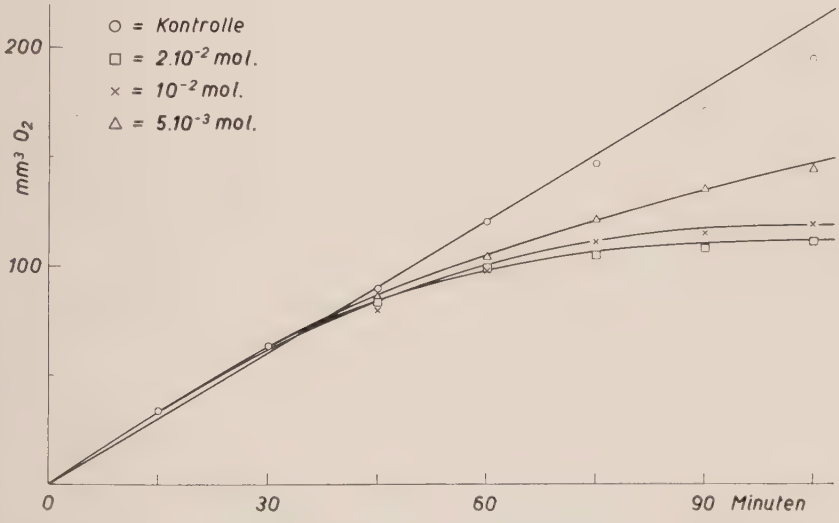



Abb. 2. Die Hemmung der $O_2$-Aufnahme vom Tomatenblattgewebe durch Zusatz synthetischer Fusarinsäure. Fusarinsäurezusatz nach 35 Minuten. Abszisse: Dauer der Einwirkung in Minuten. Ordinate: $O_2$-Verbrauch in mm³. (Jeder Punkt gemittelt aus zwei bis vier Einzelwerten)

Eine nähere Prüfung der Konzentrationsabhängigkeit (Abb. 3) zeigt, daß bei pH 5,7 (Dissoziationsgrad der Fusarinsäure etwa 35 %) die Schwelle der 50 %igen Hemmung bei einer Toxinkonzentration von $5 \cdot 10^{-3}$ Mol/l liegt. Die Toxizität der Fusarinsäure ist also unter den gegebenen Verhältnissen relativ gering. Doch vermag eine $2{,}5 \cdot 10^{-4}$ molare Lösung das Blatt-

gewebe noch deutlich zu schädigen; im Vergleich zur Atmungsintensität des nicht vergifteten Gewebes läßt sich auch hier eine Hemmung von 16 % feststellen.

Verfolgt man die Wirkung des Toxins auf das Blattgewebe in Gewebesuspensionen, die mit Phosphatpuffer auf verschiedene pH-Werte eingestellt wurden, so zeigen sich auch hier, wie im Welketest, deutliche Unterschiede. Die Hemmung der $O_2$-Aufnahme durch das Blattgewebe nimmt zu mit zunehmender H-Ionenkonzentration, die wenig dissoziierte Säure wirkt wesentlich toxischer als die stark dissoziierte.

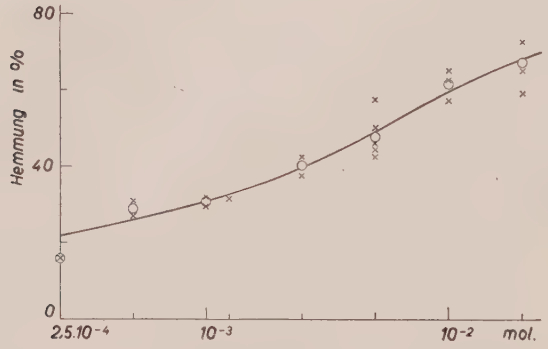



Abb. 3. Die Abhängigkeit der $O_2$-Aufnahme von der Konzentration der Fusarinsäure.

Abszisse: Molare Konzentration;

Ordinate: Hemmung der $O_2$-Aufnahme in % der Kontrollen

Eine 50 %ige Hemmung der Sauerstoffaufnahme wird bei pH 5,9 durch eine $5 \cdot 10^{-3}$ molare Fusarinsäurelösung erreicht, währenddem beim tieferen pH-Wert von 4,8 schon eine Konzentration von $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ Mol/l dieselbe Hemmung hervorruft. Bei pH 7,0 dagegen vermag erst eine Toxinkonzentration von $10^{-2}$ Mol/l eine Drosselung der Sauerstoffaufnahme auf 50 % der Kontrollen auszulösen.

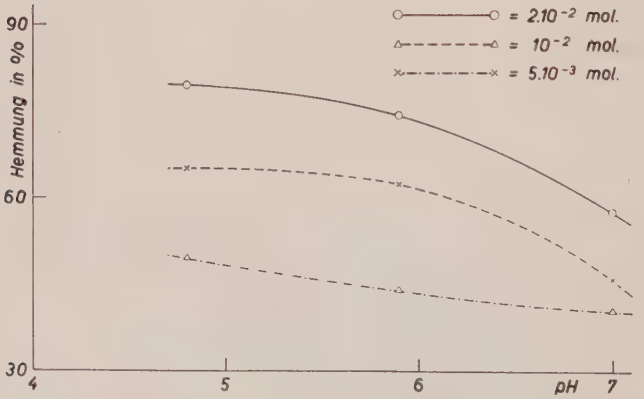



Abb. 4. Die Abhängigkeit der $O_2$-Aufnahme vom pH-Wert der Fusarinsäure.

Abszisse: pH;

Ordinate: Hemmung der $O_2$-Aufnahme in % der Kontrollen.

(Jeder Punkt gemittelt aus vier Einzelwerten)

Alle bisherigen Versuche beschränkten sich darauf, die Vergiftung des Blattgewebes an Hand der Sauerstoff-Aufnahme zu verfolgen. Die Fusarin-

säure beeinflußt jedoch nicht nur die $O_2$-Aufnahme, sondern auch die $CO_2$-Abgabe der Blattzellen, wie dies aus Abb. 5 hervorgeht. Die Kurven verlaufen parallel, und der Atmungsquotient (RQ von 1) ändert sich kaum.

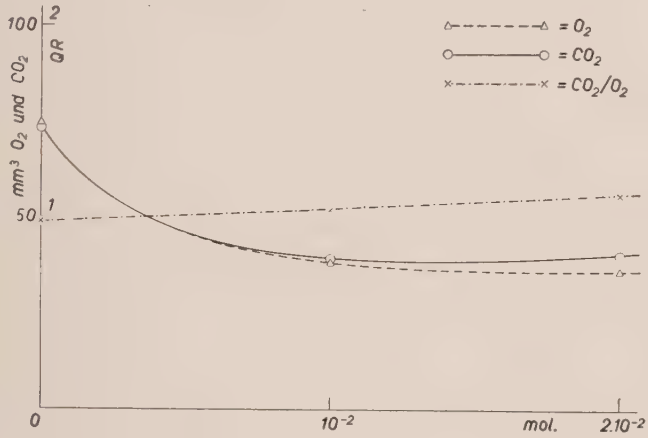



Abb. 5. Der Verlauf der $O_2$-Aufnahme und der $CO_2$-Abgabe von Blattgewebe bei Vergiftung mit Fusarinsäure.
Abszisse: molare Fusarinsäurekonzentration;
Ordinate: a) $O_2$- und $CO_2$-Verbrauch in $mm^3$; b) RQ.
(Jeder Punkt gemittelt aus drei Einzelwerten)

### 4. Die Wirkung der Picolinsäure

Zum Vergleich wurde auch ein Homologon der Fusarinsäure, die Picolinsäure, die sich in ihrer biologischen Wirksamkeit ähnlich verhält wie Fusarinsäure (Gäumann, Naef-Roth und Kobel, 1952), nach derselben Methodik untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, daß auch diese Säure in gleicher Weise auf den Gaswechsel des Tomatenblattes einwirkt. Ihre Giftigkeit liegt in derselben Größenordnung wie diejenige der Fusarinsäure, was aus den Werten der Tabelle 1 hervorgeht. Die Versuche wurden bei pH 6 durchgeführt und ergaben in diesem Falle eine 50 %ige Hemmung der Sauerstoffaufnahme durch eine $7{,}5 \cdot 10^{-3}$ molare Picolinsäurelösung.

*Tabelle 1*
Die Hemmung der $O_2$-Aufnahme des Tomatenblattgewebes durch Picolinsäure

| molare Picolinsäurekonzentration | Hemmung der $O_2$-Aufnahme in % der Kontrollen (Mittel aus je 3 Einzelwerten) |
|---|---|
| $2 \cdot 10^{-2}$ | 70,8 |
| $10^{-2}$ | 56,5 |
| $7{,}5 \cdot 10^{-3}$ | 50,4 |
| $5 \cdot 10^{-3}$ | 38,0 |
| $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ | 28,5 |
| $10^{-3}$ | 21,0 |
| $5 \cdot 10^{-4}$ | 16,5 |

## 5. Diskussion

Die vorgelegten Ergebnisse zeigen, daß die Hemmung der Atmung des Tomatenblattgewebes durch Fusarinsäure analogen Gesetzmäßigkeiten folgt wie der Welke-Effekt an Tomatensprossen; damit findet die an Hand des Welketestes beobachtete pH-Abhängigkeit der toxischen Wirkung auf höhere Pflanzen eine Bestätigung.

Weiter läßt die Tatsache, daß sowohl $O_2$-Aufnahme wie $CO_2$-Abgabe in gleichem Maße gehemmt werden, den Schluß zu, daß das ganze Gaswechselsystem, also eines oder mehrere wichtige Fermente, blockiert wird. Die japanischen Autoren führen die Wirkung auf eine Blockierung der entsprechenden Fermente (Cytochrome, Peroxydase, Katalase usw.), (TAMARI und KAJI, 1952) durch Chelatbildung mit den als Katalysatoren wirksamen Schwermetallen zurück, wie sie auch für die Wirkung der ebenfalls erwähnten Picolinsäure angenommen werden kann.

Versucht man nun, die verschiedenen bisher beobachteten Wirkungen der Fusarinsäure zu vergleichen und zueinander in Beziehung zu setzen, nämlich die Welkewirkung auf Tomatensprosse und auf eine Reihe anderer Blütenpflanzen, die Permeabilitätserhöhung am Blattgewebe und die Atmungshemmung sowie ihre pH-Abhängigkeit, so stellt sich die Frage nach dem Zusammenwirken dieser Faktoren sowie nach ihren primären Ursachen. Dabei bestehen zwei Möglichkeiten:

a) die verschiedenen Störungen werden durch verschiedene Mechanismen ausgelöst oder

b) sie können als verschiedene Auswirkungen ein und desselben Mechanismus erklärt werden.

Daß der Welkekollaps einer Pflanze mit einer Störung der Semipermeabilität der Plasmagrenzschicht verbunden ist, wurde schon verschiedentlich, auch für andere Toxine (Patulin, Lycomarasmin usw.), gezeigt. Doch könnten möglicherweise die durch Fusarinsäure ausgelöste Permeabilitätsstörung und die Atmungshemmung als Erscheinungen zweier verschiedener Wirkungsmechanismen auseinandergehalten werden. Die Atmungshemmung würde auf einer Blockierung des für die Funktion der Atmungsfermente wichtigen Eisens beruhen, die Permeabilitätsstörung jedoch auf einer anderen noch nicht definierten Eigenschaft des Toxins, das Plasma zu schädigen bzw. zu koagulieren.

Sollten aber die Wirkungen auf den gleichen Nenner zurückzuführen sein, so könnte man sich entweder vorstellen, daß die Chelierung als primäre Ursache die Atmung unterbindet, die Zelle also „erstickt", und daß erst als Folge davon Oberflächenschädigungen durch Absterben des Plasmas in Erscheinung treten. Oder es findet, neben der Chelierung mit dem Eisen der Atmungsfermente und der daraus folgenden Atmungshemmung, durch einen

analogen Effekt auch mit anderen Metallionen im Eiweißgerüst der Plasmahaut eine Chelatbildung statt, welche Strukturveränderungen bedingt und so die Wasserpermeabilität der Plasmamembran erhöht.

Es wird das Ziel weiterer Untersuchungen sein, die toxische Wirkung der Fusarinsäure an einem günstigeren Versuchsobjekt, der Hefe, zu verfolgen, um der Lösung dieser Fragen etwas näher zu kommen.

## Zusammenfassung

Es wurde gezeigt:

1. daß die Fusarinsäure, 5 n-butyl-Picolinsäure, auf das Tomatenblattgewebe atmungshemmend wirkt,
2. daß die Hemmung pH-abhängig ist,
3. daß sowohl die $O_2$-Aufnahme wie die $CO_2$-Abgabe in gleichem Maße gehemmt werden; der Atmungsquotient bleibt beinahe 1,
4. daß die Picolinsäure eine gleichartige Wirkung auf die Atmung des Tomatenblattgewebes ausübt wie die Fusarinsäure.

## Literaturverzeichnis

Eichenberger, E., 1952: Über die Atmung lebender Tabakblätter. Ber. schw. Bot. Ges. **62**, 123—163.

Gäumann, E., Naef-Roth, St. und Kobel, H., 1952: Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. **20**, 1—38.

— —, — —, Reusser, P. und Ammann, A., 1952: Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotika auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. Phytopath. Z. **19**, 190—220.

Plattner, Pl. A., Keller, W. und Boller, A., 1954: Isolierung und Synthese der Fusarinsäure. Helv. Chim. Act., im Druck.

Tamari, K. and Kaji, J., 1952: Studies on the mechanism of injurious action of Fusarinic acid on plant growth. J. Agr. Chem. Soc. Japan, **26**, 223—227, 295—298, 298—303, 345—349, 349—353.

— — and — —, 1953: Studies on the mechanism of injurious action of Fusarinic acid on plant growth. J. Agr. Chem. Soc. Japan, **27**, 144—147, 147—150, 159—161, 245 bis 249, 249—252, 302—306.

Yabuta, T., Kambe, K. and Hayashi, T., 1934: Biochemistry of the Bakanaëfungus. I. Fusarinic acid, a new product of the Bakanaëfungus. J. Agr. Chem. Soc. Japan **10**, 1059—1068, zit. nach Chemical Abstracts **29**, 1938, S. 1132.

*Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Braunschweig*
*Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner*

# Symptome der Steinbranderkrankung *(Tilletia)* bei Weizen und Roggen

Von

G. Gassner und E. Niemann

*Mit 12 Abbildungen*

## I. Einleitung

Im Jahre 1952/53 wurden von uns künstliche Infektionen von Weizen mit gewöhnlichem Steinbrand (*Tilletia tritici* [Bjerk.] Winter = *T. caries* Tul.) und mit Zwergsteinbrand (*Tilletia tritici nanifica* Wagner = *T. brevifaciens* Fischer) sowie von Roggen mit Roggensteinbrand (*Tilletia secalis* Kcke. = *T. tritici* f. sp. *secalis* Pichler) durchgeführt[1]), um die Abhängigkeit der Infektion von äußeren Faktoren zu klären (Gassner und Niemann 5). Über die hierbei an den befallenen Getreidepflanzen beobachteten Krankheitssymptome wird im folgenden zusammenfassend berichtet.

Zur Durchführung der Infektionen wurden im Winter 1952/53 Getreidekeimlinge von 2 bis 5 mm Koleoptilenlänge mit einer Aufschwemmung von vorgekeimten Sporidien der drei Steinbrandarten besprüht und dann einige Zeit bei einer für das Angehen der Infektion günstigen Temperatur (2°, 5° oder 12° C) aufgestellt. Während des Winters wurden die infizierten Keimlinge ins Frühbeet pikiert und bei günstiger Witterung im folgenden Frühjahr ins Freiland verpflanzt. Einzelheiten über das zur Infektion verwendete Saatgut und Sporenmaterial (Ernte 1952) wie auch über die für die künstliche Infektion verwendete Methodik sind in der oben angeführten Veröffentlichung (5) enthalten.

Die Untersuchungen wurden aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziert, der wir hierfür unsern Dank sagen.

## II. Halmverkürzungen an erkrankten Pflanzen

Für die vom gewöhnlichen Steinbrand befallenen Weizenpflanzen wird von allen Autoren eine mittlere Verkürzung der erkrankten Halme angegeben. v. Kirchner (9) fand ein Verhältnis der Halmlängen bei

[1]) Da die systematische Abgrenzung dieser Arten noch nicht völlig geklärt ist, werden von uns vorerst sämtliche bisher gebräuchlichen Bezeichnungen ohne eigene Stellungnahme angeführt.

*Tabelle 1*

Halmlänge und Bestockung steinbrandinfizierter Getreidepflanzen

| | | ausgewertete Pflanzen | | ausgewertete Halme | | mittlere Bestockung der Pflanzen | mittlere Halmlänge | | ralative Halmlänge (bezogen a. d. gesund. Pfl. jed. Versuchs) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Erkrankung | Zahl | Erkrankung | Zahl | | in cm | mittlerer Fehler | |
| A. Winterweizen (Carsten V) infiziert mit gewöhnlichem Steinbrand | a | gesund | 529 | gesund | 3202 | 6,1 | 75,8 | ± 0,3 | 100 |
| | b | teilerkrankt | 206 | gesund | 1179 | 8,1 | 69,4 | ± 0,5 | 92 |
| | c | | | krank | 495 | | 67,2 | ± 0,8 | 89 |
| | d | totalerkrankt | 326 | krank | 1624 | 5,0 | 67,9 | ± 0,4 | 90 |
| B. Winterweizen (General von Stocken) infiziert mit Zwergsteinbrand | a | gesund | 630 | gesund | 2691 | 4,3 | 82,6 | ± 0,4 | 100 |
| | b | teilerkrankt | 6 | gesund | 14 | 8,8 | 78,6 | ± 4,3 | 95 |
| | c | | | krank | 39 | | 35,0 | ± 2,2 | 42 |
| | d | totalerkrankt | 22 | krank | 100 | 4,5 | 38,2 | ± 1,1 | 46 |
| C. Sommerweizen (v. Rümkers Sommerdickkopf) infiziert mit Zwergsteinbrand | a | gesund | 125 | gesund | 524 | 4,2 | 83,2 | ± 0,8 | 100 |
| | b | teilerkrankt | 5 | gesund | 5 | 6,8 | 87,8 | ± 2,5 | 105 |
| | c | | | krank | 29 | | 48,6 | ± 3,2 | 58 |
| | d | totalerkrankt | 19 | krank | 114 | 6,0 | 42,6 | ± 1,3 | 51 |
| D. Winterroggen (Petkuser Normalstroh) infiziert mit Roggen-steinbrand | a | gesund | 399 | gesund | 1835 | 4,6 | 109,4 | ± 0,6 | 100 |
| | b | teilerkrankt | 7 | gesund | 7 | 7,9 | 112,2 | ± 7,0 | 103 |
| | c | | | krank | 981 | | 51,4 | ± 0,7 | 47 |
| | d | totalerkrankt | 118 | krank | | | | | |

gesunden und kranken Pflanzen von 109,26 : 81,5 cm (Verkürzung 25 %), während LANG (12) für Strubes Dickkopf das Verhältnis wie 137 : 92 cm angibt (Verkürzung 33 %). Gleiche Werte führt ZILLIG (24) an. In Litauen sind nach VILKAITIS (18) gleichfalls Halmverkürzungen von 25 % bei Steinbrandbefall beobachtet.

Das Ergebnis unserer eigenen Messungen ist in der Tabelle 1 (A) zusammengefaßt, die zugleich Angaben über den Umfang des ausgewerteten Materials enthält. Für den mit gewöhnlichem Steinbrand infizierten Winterweizen (Carsten V) ergibt sich eine 10 %ige Verkürzung der totalerkrankten Pflanzen (d), 11 % Verkürzung der kranken Halme aus teilerkrankten Pflanzen (c) und 8 % Verkürzung der gesunden Halme aus teilerkrankten Pflanzen (b) — jeweils bezogen auf die Länge völlig gesunder Pflanzen (a). Die graphische Darstellung der Verteilungskurven gibt Abb. 1. Die Unterschiede von b, c und d gegenüber a sind unter Berücksichtigung der Zahl der ausgewerteten Halme als überzufällig anzusprechen (Auswertung nach KOLLER, 10), während die geringen Unterschiede zwischen b, c und d gegeneinander nicht gesichert sind[1]).

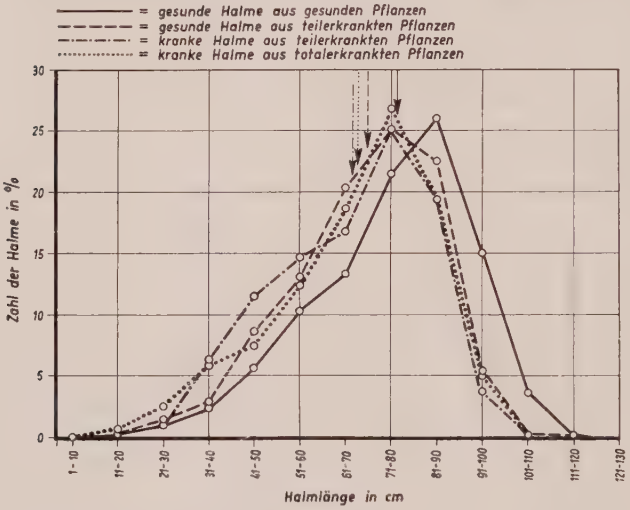



Abb. 1. Halmlänge von Winterweizen — Carsten V — nach künstlicher Infektion mit gewöhnlichem Steinbrand. Die Pfeile bezeichnen die mittlere Halmlänge für die einzelnen Gruppen

Das für die Praxis wichtigste Unterscheidungsmerkmal des Zwergsteinbrandbefalls vom gewöhnlichen Steinbrand ist neben der unterschiedlichen Leistenhöhe der Sporen die auffallend starke Verkürzung der an Zwergsteinbrand erkrankten Pflanzen (YOUNG, 23). HOLTON, BAMBERG und WOODWARD (7) geben für die USA hierfür je nach Sorte Halmverkürzungen von 59 % bis 66 % an; nach FISCHER (4) haben die kranken Pflanzen nur einhalb bis ein Viertel der Länge gesunder Pflanzen. In Deutschland fand WAGNER (21) beim Vergleich gesunder Pflanzen mit den von gewöhnlichem Steinbrand befallenen und an Zwergsteinbrand erkrankten Pflanzen ein Längenverhältnis von 100 : 90 : 50; während WARMBRUNN (22) bei Zwergsteinbrandbefall mittlere Halmlängen von 31,6 cm, für gesunde Pflanzen solche von 92,15 cm beobachtete.

[1]) Nach MURASCHKINSKIJ (13) soll jedoch die Verkürzung gesunder Halme aus teilerkrankten Pflanzen nur halb so groß sein wie die von kranken Halmen aus diesen Pflanzen.

Die in unseren Infektionsversuchen mit Zwergsteinbrand gefundene Halmverkürzung ist für Winterweizen (General v. Stocken) in Tabelle 1 (B) und in Abb. 2, für Sommerweizen (v. Rümkers Sommerdickkopf) in Tabelle 1 (C) und Abb. 3 aufgeführt. Bei beiden Sorten sind die erkrankten Halme sowohl aus totalerkrankten Pflanzen (d) wie auch aus teilerkrankten Pflanzen (c) durchschnittlich um 42 % bzw. 58 % gegenüber den gesunden Pflanzen (a) verkürzt. Anscheinend ist diese Halmverkürzung bei der Sorte General v. Stocken etwas stärker als bei v. Rümkers Sommerdickkopf. Beim Vergleich der gesunden Halme aus teilerkrankten Pflanzen (b) mit denen aus völlig gesunden Pflanzen (a) sind nur kleine, innerhalb der Fehlergrenze liegende Unterschiede zu erkennen.

Von Interesse ist noch die Beobachtung, daß in unseren Versuchsparzellen die an Zwergsteinbrand erkrankten Pflanzen sich zumeist schon im grünen Zustand außer durch ihren gestauchten

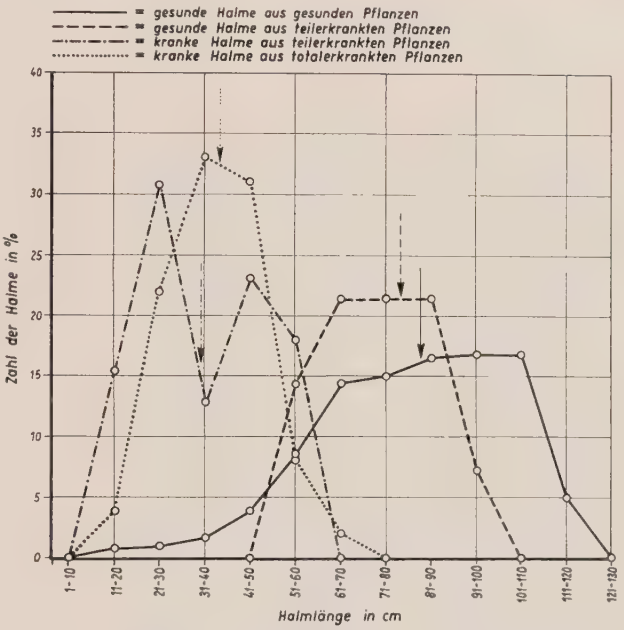



Abb. 2. Halmlänge von Winterweizen — General v. Stocken — nach künstlicher Infektion mit Zwergsteinbrand. Die Pfeile bezeichnen die mittlere Halmlänge für die einzelnen Gruppen

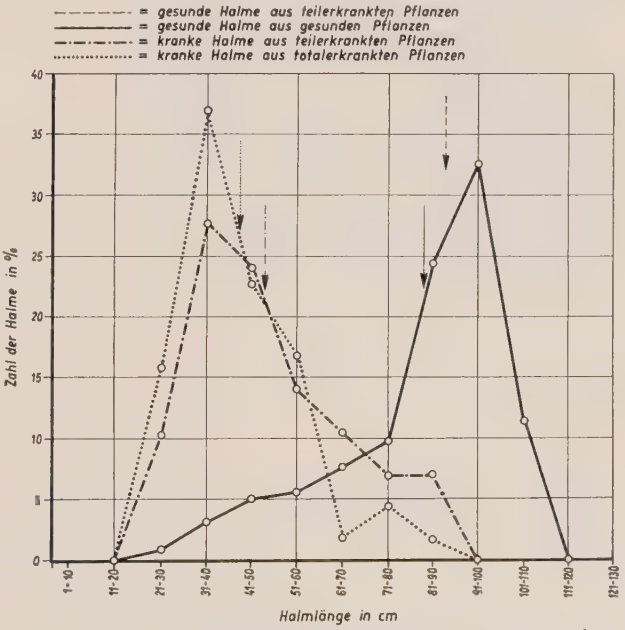



Abb. 3. Halmlänge von Sommerweizen — v. Rümkers Sommerdickkopf — nach künstlicher Infektion mit Zwergsteinbrand. Die Pfeile bezeichnen die mittlere Halmlänge für die einzelnen Gruppen. (Für gesunde Halme aus teilerkrankten Pflanzen wurde nur der Mittelwert eingetragen)

Wuchs auch durch eine hellere, chlorotische Färbung von den gesunden Pflanzen unterschieden. Zur Zeit der Reife war dieser Farbunterschied nicht mehr zu erkennen.

Über eine Halmverkürzung bei von Steinbrand befallenen Roggenpflanzen liegt bisher nur von WARMBRUNN (22) eine Mitteilung vor, während andere Autoren, die bisher über den Roggensteinbrand berichteten (RABENHORST, 16; v. NIESSL, 14; COHN, 3; BUKÁK, 2), hierüber keine Angaben machen. Da es sich bei den Verkürzungen um eine sehr auffällige und nicht zu übersehende Erscheinung handelt (sofern nicht lediglich Exsiccatenmaterial den Beschreibungen zugrunde lag), muß man annehmen, daß in diesen Fällen die erkrankten Pflanzen nicht wesentlich verkürzt waren. Von VOLKART (19) wird denn auch ausdrücklich erwähnt: „. . . Die befallenen Pflanzen stehen zur Reifezeit, wenn sich die gesunden Ähren unter der Last der Körner neigen, oft steif über den ganzen Bestand hinaus. Von einer Verkürzung des Halmes kann kaum gesprochen werden . . . .“ PICHLER (15) teilt gleichfalls mit, daß bei dem von ihm in Österreich gefundenen Roggensteinbrand keine Verkürzung auftritt, diese Krankheit sich also dadurch vom Weizenzwergsteinbrand unterscheidet. Nach allen diesen Angaben hält WARMBRUNN (22) den von ihm auf Roggen beobachteten, Verkürzungen hervorrufenden Steinbrand nicht für identisch mit dem von anderen Autoren beschriebenen Roggensteinbrand, sondern sieht ihn als einen auf Roggen übergegangenen Weizenzwergsteinbrand an.

Zur Klärung der Frage über die Zuordnung des auf Roggen vorkommenden Steinbrandpilzes scheint uns das Ergebnis unserer Infektionsver-

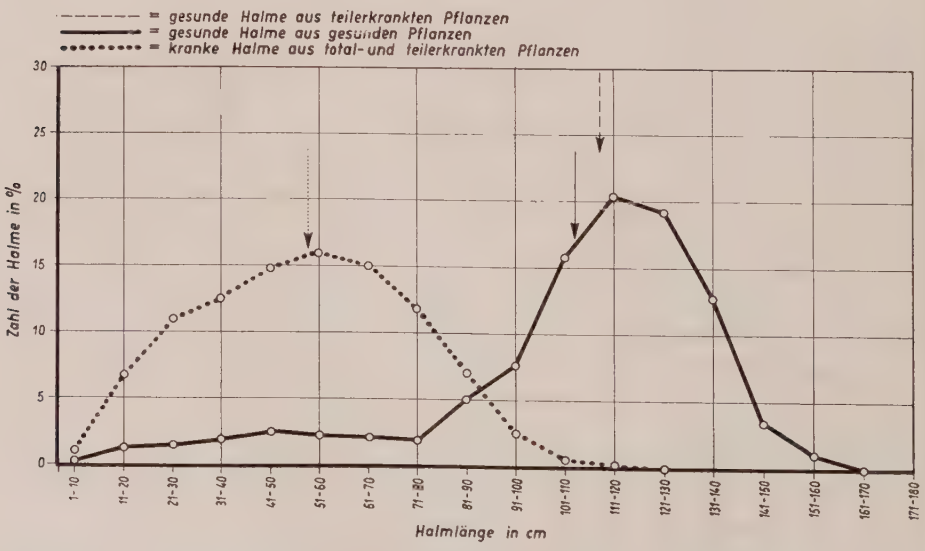



Abb. 4. Halmlänge von Winterroggen — Petkuser Normalstroh — nach künstlicher Infektion mit Roggensteinbrand. Herkunft der zur Infektion verwendeten Sporen aus Rauris, Österreich. Die Pfeile bezeichnen die mittlere Halmlänge für die einzelnen Gruppen. (Für gesunde Halme aus teilerkrankten Pflanzen wurde nur der Mittelwert eingetragen)

suche von Bedeutung, wonach unter den vorliegenden Bedingungen der künstlichen Infektion auch durch den Roggensteinbrand beträchtliche Halmverkürzungen hervorgerufen wurden (Tabelle 1 [D] und Abb. 4). Die erkrankten Roggenhalme (aus totalerkrankten [d] und teilerkrankten [c] Pflanzen zusammengerechnet) waren um 53 % — also ähnlich stark wie bei den Zwergsteinbrandversuchen — gegenüber gesunden Halmen aus gesunden Pflanzen (a) verkürzt. Die gesunden Halme (b) aus teilerkrankten Pflanzen zeigten demgegenüber keine Verkürzung, sondern sogar eine geringfügige, innerhalb der Fehlergrenze liegende Verlängerung im Vergleich zu a. Einige an Roggensteinbrand erkrankte Pflanzen mit verschieden starker Halmverkürzung wurden ausgegraben und in Abb. 5 zusammen mit einer gesunden Pflanze (links) abgebildet.

Abb. 5. Winterroggen — Petkuser Normalstroh — nach künstlicher Infektion mit Roggensteinbrand. Links: eine gesunde Pflanze; rechts: vier erkrankte Pflanzen mit verschieden starker Halmverkürzung. Verkl. 13:1. Aufn. 13.7.1953. *Bildst.BBA*

In noch stärkerem Maße als beim Zwergsteinbrand unterschieden sich die jungen, vom Roggensteinbrand befallenen Roggenpflanzen schon Ende Mai sehr deutlich von den gesunden Pflanzen durch ihre helle, chlorotische Verfärbung und waren dadurch auch schon vor dem Hervortreten der Wuchsstauchung deutlich in den Parzellen zu erkennen. Diese Pflanzen blieben weiterhin sichtlich im Wuchs zurück; ein Teil von ihnen verkümmerte völlig unter Absterben der Blätter, ohne daß Ähren ausgebildet wurden, die restlichen erkrankten Pflanzen blieben stark verkürzt. Diese Erscheinung ist möglicherweise durch die sehr warme und trockene Witterung des Frühsommers 1953 etwas verstärkt worden.

Bei den von uns zur Infektion verwendeten, die Verkürzungen hervorrufenden Roggensteinbrandsporen handelt es sich um Originalmaterial aus Rauris, Österreich (Ernte 1952), das uns freundlicherweise von Dr. Pichler, Wien, zur Verfügung gestellt wurde. Pichler (15) gibt für die Roggenbe-

stände mit Steinbrandbefall, aus denen dies Material stammt, keine Halmverkürzungen an. Ob eine Roggensteinbrandherkunft Wuchsstauchungen hervorruft, muß demnach nicht nur vom Parasiten, sondern auch von anderen Faktoren abhängen. Es kämen dabei möglicherweise klimatische Faktoren, wie Temperatur und Feuchtigkeit, oder aber eine unterschiedliche Reaktion verschiedener Roggensorten in Betracht, da in Österreich (und anderen Befallsgebieten wie der Schweiz, Böhmen, Schlesien und Rußland) andere Roggensorten gebaut werden, als sie von uns zur Infektion verwendet wurden[1]). Ob in unseren Versuchen die Halmverkürzungen auch durch die Bedingungen, unter denen die Infektionen vorgenommen wurden — insbesondere das zweimalige Umpflanzen bzw. Pikieren und die damit verbundene Wachstumsstockung — begünstigt worden sind, läßt sich zur Zeit noch nicht sagen. Auf jeden Fall können solche starken Verkürzungen an Roggen auch im Freiland auftreten, wie der Bericht WARMBRUNNS (22) zeigt. Vor allem aber konnte GASSNER bei einer im Jahre 1953 unternommenen Reise in die Türkei dort vielfach in Feldbeständen brandbefallene Roggenpflanzen feststellen, die sehr stark verkürzt waren. Hierüber sowie über die sich daraus ergebenden Gesichtspunkte für die Abgrenzung der einzelnen *Tilletia*-Arten gegeneinander wird nach Abschluß laufender Keimungs- und Infektionsversuche mit diesen aus der Türkei stammenden Steinbrandherkünften berichtet werden.

Schon heute läßt sich sagen, daß eine Abgrenzung von Zwerg- und Roggensteinbrand gegeneinander als verschiedene Arten nur auf Grund der vom Zwergsteinbrand hervorgerufenen Verkürzungen nicht zu vertreten ist, solange nicht andere morphologische Eigenarten hierfür sprechen. Dies gilt vor allem auch deshalb, weil die Halmverkürzung nicht allein ein Charakteristikum des Steinbrandpilzes ist, sondern auch von anderen Faktoren (Reaktion der Wirtspflanze, Umweltbedingungen) beeinflußt wird.

Für die Praxis ergibt sich die Frage, ob bei der physiologischen und biologischen Ähnlichkeit des Weizenzwergsteinbrandes und Roggensteinbrandes, wie sie von GASSNER und NIEMANN (5) nachgewiesen werden konnte, für die letzte Form eine gleiche Ausbreitung in Deutschland möglich und zu befürchten ist, wie sie in den letzten Jahren beim Zwergsteinbrand erfolgte. Es erscheint notwendig, in Zukunft vermehrt auf das Auftreten von Steinbrand in Roggenbeständen zu achten[2]).

### III. Bestockung der an Steinbrand erkrankten Pflanzen

Allgemein wird in der Literatur angeführt, daß sowohl die vom gewöhnlichen Steinbrand (v. KIRCHNER 9, SAMPSON and DAVIS 17, VILKAITIS 18) wie auch die vom Zwergsteinbrand (YOUNG 23, HOLTON 6, WAGNER 20, WARMBRUNN 22) befallenen Weizenpflanzen

[1]) Die in einem weiteren Infektionsversuch mit Roggensteinbrand infizierten Pflanzen des Petkuser Tetraroggens waren in gleicher Weise verkürzt.

[2]) Um einen Überblick über die augenblickliche und weitere Verbreitung von Roggensteinbrand zu erhalten, bitten wir um Einsendung steinbrand-erkrankter Roggenpflanzen an Dr. E. NIEMANN, Institut für Getreide-, Ölfrucht- und Futterpflanzenbau, Kiel-Kitzeberg.

stärker bestockt sind als gesunde Pflanzen. Für Roggenpflanzen mit Steinbrandbefall hingegen führt Warmbrunn (22) an, daß hier die Halmzahl nicht erhöht war, wobei sich allerdings dieser Befund anscheinend nur auf eine geringe Pflanzenzahl stützt.

Für das von uns infizierte Material wurde die aus Halm- und Pflanzenzahl berechnete mittlere Bestockung gleichfalls in Tabelle 1 aufgeführt. Bei dem mit Roggensteinbrand infizierten Roggen (D) sind die erkrankten Pflanzen (total- und teilerkrankte Pflanzen zusammen) im Gegensatz zu Warmbrunns (22) Beobachtung wesentlich stärker bestockt als die gesunden Pflanzen (7,9 : 4,6). Beim Weizen scheinen vor allem die teilerkrankten Pflanzen nach Infektion mit gewöhnlichem Steinbrand (A) oder Zwergsteinbrand (B und C) stärker bestockt zu sein als gesunde Pflanzen, während totalerkrankte Pflanzen bei Zwergsteinbrandbefall nur wenig stärkere, bei Besatz mit gewöhnlichem Steinbrand sogar geringere Bestockung aufwiesen als gesunde Pflanzen.

Im einzelnen soll auf diese Auswertung nicht näher eingegangen werden, da die Pflanzen bei der künstlichen Infektion mehrfach umgepflanzt wurden und gerade eine solche Behandlung die Bestockung stark beeinflussen kann. Die Werte können daher nicht ohne weiteres auf Freilandverhältnisse übertragen werden. Hinzukommt, daß die Pflanzen nicht einzeln auf Bestockung ausgezählt wurden, sondern diese erst nachträglich aus Halm- und Pflanzenzahl errechnet wurde. Eine Angabe über den Streuungbereich läßt sich daher nicht machen.

## IV. Veränderungen der Ährenform

Bereits von Kühn (11) wird darauf hingewiesen, daß die Weizenähren bei Befall mit gewöhnlichem Steinbrand schmaler sind als gesunde Ähren, und auch Appel (1) hebt hervor, daß die Ähren von Squarehead-Weizen durch den Steinbrandbefall in ihrer Form stark verändert werden. Nach weiterer, bei Zillig (24) zitierter Literatur ist diese Gestaltsveränderung je nach Sorte verschieden.

Abb. 6 und 7 zeigen die Umbildung der Ährenform nach Befall durch gewöhnlichen Steinbrand (rechts) und Zwergsteinbrand (links); in der Mitte jeweils zwei gesunde Ähren. Bei beiden Sorten — in Abb. 6: Winterweizen, General v. Stocken; in Abb. 7: Sommerweizen, v. Rümkers Sommerdickkopf — ergibt sich das gleiche Bild. Die Ähren mit gewöhnlichem Steinbrand sind schmaler und zeigen eine Streckung der Achse, wodurch die einzelnen Ährchen auseinandergerückt sind. Da die Zahl der Ährchen jedoch meist geringer war, konnte keine wesentliche Verlängerung der Ähren festgestellt werden. Bei Zwergsteinbrand waren zu dieser Zeit die Ähren sehr sparrig und nicht so gleichmäßig aufgebaut wie bei gesunden oder an gewöhnlichem Steinbrand erkrankten Pflanzen. Auch hier war die Ährchenzahl zumeist etwas herabgesetzt, ohne daß die Ähren im ganzen verkürzt waren. Es war bei einiger Übung bereits möglich, auf Grund dieser Merkmale Zwergsteinbrand und gewöhnlichen Steinbrand zur Blütezeit aus einem Bestand herauszufinden. Zur Zeit der Reife traten diese Unterschiede dann allerdings zumeist nicht mehr so eindeutig hervor.

Auch die Roggensteinbrandähren zeigten zur Blütezeit eine etwas veränderte Form im Vergleich zu gesunden Roggenähren (Abb. 8), da die erkrankten Ähren zumeist kleiner und schmaler als gesunde Ähren waren. Rabenhorst (16) erwähnt allerdings ausdrücklich, daß die von ihm ge-

Abb. 6. Ährenform von Winterweizen — General v. Stocken — bei Steinbrandbefall. Verkl. 1,7 : 1. Aufnahme 24. 6. 53, zur Zeit der Blüte

Abb. 7. Ährenform von Sommerweizen — v. Rümkers Sommerdickkopf — bei Steinbrandbefall. Verkl. 1,7 : 1. Aufnahme 24. 6. 53, zur Zeit der Blüte

fundenen Roggensteinbrandähren nicht deformiert waren, so daß möglicherweise die Ährenverformung sortenbedingt oder durch äußere Faktoren beeinflußbar ist. Eventuell waren die Kümmerähren bei unseren Versuchen nur eine Folge der gestörten Stoffleitung in den stark verkürzten Halmen. Bemerkenswert an den Roggensteinbrandähren war ferner, daß oft auch Fruchtknoten der dritten, zum Teil auch die einer vierten Blüte, in den Ährchen als Brandbutte ausgebildet waren (Abb. 9).

Abb. 8. Ährenform von Winterroggen — Petkuser Normalstroh — bei Befall durch Roggensteinbrand. Links: gesunde Ähre; rechts: zwei Roggensteinbrandähren. Verkl. 1,5 : 1. Aufnahme 16. 6. 53, kurz vor der Blüte

Abb. 9. Roggenährchen mit Roggensteinbrandbefall und Ausbildung von vier Brandbutten. Vergr. 1 : 2,2. Aufnahme 24. 6. 53, zur Zeit der Blüte

## V. Veränderungen in den Blütenorganen erkrankter Getreidepflanzen

Das Charakteristikum der als Steinbrand im weiteren Sinne bezeichneten *Tilletia*-Erkrankungen an Getreide und Gräsern ist die Umbildung des Fruchtknotens zur Brandbutte. Abb. 10 zeigt Brandbutten der

drei untersuchten Steinbrandarten (bzw. -formen) im reifen Zustand. Bei allen dreien variiert die Größe der Brandbutten sehr stark. Für den Zwergsteinbrand wird von HOLTON und HEALD (8), WAGNER (20) und WARMBRUNN (22) angegeben, daß die Brandbutten etwas kleiner und runder sind als die des gewöhnlichen Steinbrandes. Dieser Unterschied ist auch in Abb. 10 erkennbar, wenn er auch nicht zur sicheren Unterscheidung beider Arten ausreicht. Die Roggensteinbrandbutten zeigen die typisch verlängerte Form des Roggenkorns und sind an der Spitze schnabelförmig ausgezogen. Wie bereits RABENHORST (16) hervorhebt, so konnte auch von uns beobachtet werden, daß die Brandbutten hier sehr leicht aufreißen und daher oft schon im Feldbestand ausstäuben.

Abb. 10. Reife Brandbutten des gewöhnlichen Steinbrandes (G) und Zwergsteinbrandes (Z), beide von Winterweizen — General v. Stocken —. Roggensteinbrandbutten (R) von Winterroggen — Petkuser Normalstroh —

Die Ausbildung der Brandbutten in den Blüten erfolgt verhältnismäßig früh. Bereits zur Zeit der Blüte, wenn die gesunden Fruchtknoten noch unvergrößert und glasigweiß sind, haben die Brandbutten in den erkrankten Blüten nahezu ihre endgültige Größe erreicht und sind dunkelgrün gefärbt. Abb. 11 zeigt diese Verhältnisse für den Zwergsteinbrand (oben), den gewöhnlichen Steinbrand (unten) und gesunde Blüten (Mitte) der Winterweizensorte General v. Stocken. Die Lodiculae (in der Abbildung abpräpariert) und die Narben sind normal ausgebildet, während die Staubgefäße der erkrankten Blüten zumeist stark verkümmert sind. Diese Mißbildung ist noch deutlicher bei den langen Staubgefäßen des Roggens zu erkennen (Abb. 12).

Abb. 11. Blüten des Winterweizens — General v. Stocken — mit Befall durch Zwergsteinbrand (oben) und gewöhnlichen Steinbrand (unten). Kontrolle (Mitte) nicht erkrankt. Spelzen und Schwellkörper abpräpariert. Vergr. 1 : 3,5. Aufnahme 25. 6. 53, unmittelbar vor der Blüte

Abb. 12. Blüten des Winterroggens — Petkuser Normalstroh —. Nicht erkrankte Kontrolle (oben) und Befall durch Roggensteinbrand (unten). Spelzen und Schwellkörper abpräpariert. Vergr. 1 : 3,5. Aufnahme 18. 6. 53, unmittelbar vor der Blüte

## Zusammenfassung

1. Es wird über die nach künstlicher Infektion mit gewöhnlichem Steinbrand, Zwergsteinbrand und Roggensteinbrand an den Getreidepflanzen beobachteten Krankheitssymptome und morphologischen Veränderungen berichtet.

2. Durch den Befall mit gewöhnlichem Steinbrand wurden an Winterweizen Halmverkürzungen von etwa 10 % hervorgerufen, während die Verkürzung an Winter- und Sommerweizen bei Zwergsteinbrandinfektion 42 bis 58 % betrug. Auffallenderweise konnten auch nach Infektion mit Roggensteinbrand (Herkunft: Rauris in Österreich) Halmverkürzungen von durchschnittlich 53 % beobachtet werden.

3. Die Ähren der erkrankten Pflanzen zeigten bei allen drei Steinbrandarten charakteristische Verformungen.

4. Die Steinbrandbutten waren schon zur Blütezeit des Getreides weitgehend ausgebildet, während die Staubgefäße zu dieser Zeit stark verkümmert waren.

## Literaturverzeichnis


1. APPEL, O., 1906: Die Beurteilung der Sortenreinheit von Squarehead-Weizenfeldern. Dtsch. Landw. Presse **57**.
2. BUBÁK, F., 1909: Eine neue *Tilletia*-Art. Z. f. Landw. Vers.-Wesen in Österr. 545—549.
3. COHN, F., 1876: Über die in Schlesien im Getreide beobachteten Brandpilze. Jber. d. Schles. Ges. f. Vaterl. Kultur **54**, 135.
4. FISCHER, W. G., 1952: *Tilletia brevifaciens* sp. nov., causing dwarf bunt of wheat and certain grasses. Res. Stud. State Coll. of Wash. **20**, 11—14.
5. GASSNER, G, und NIEMANN, E., 1954: Über die Infektion von Weizen und Roggen durch verschiedene *Tilletia*-Arten. Phytopath. Z. **21**, 109—124.
6. HOLTON, C. S., 1941: Preliminary investigations on dwarf bunt of wheat. Phytopathology **31**, 74—82.
7. — —, BAMBERG, R. H. and WOODWARD, R. W., 1949: Progress in the study of dwarf bunt of winter wheat in the pacific northwest. Phytopathology **39**, 986—1000.
8. — — and HEALD, F. D., 1936: Studies on the control and other aspects of bunt of wheat. Wash. Agr. Exp. Stat. Bull. **339**, 22—23.
9. v. KIRCHNER, O., 1893: Über die Behandlung des Saatgetreides mit warmem Wasser als Mittel gegen Flug- und Steinbrand. Z. f. Pflkr. **2**. Zitiert nach LANG (12).
10. KOLLER, S., 1943: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. 2. Aufl. Dresden und Leipzig.
11. KÜHN, J., 1858: Die Krankheiten der Kulturgewächse. Zitiert nach LANG (12).
12. LANG, W., 1917: Über die Beeinflussung der Wirtspflanze durch *Tilletia tritici*. Z. f. Pflanzenkr. **27**, 80—99.
13. MURASCHKINSKIJ, K. E., 1925: Über den Einfluß des Steinbrandes auf das Wachstum des Weizens. (Russisch) Arb. Sib. Landw. Akad. Omsk **4**. Zitiert nach ZILLIG (24).
14. v. NIESSL, G., 1876: Über das Vorkommen von *Tilletia secalis* J. Kühn. Hedwigia **15**, 161.
15. PICHLER, F., 1950: Über Roggensteinbrand (*Tilletia tritici* f. sp. *secalis*). Pflanzenschutz-Ber. **5**, 273—286.
16. RABENHORST, L., 1849: *Uredo Secales* Rabenh., der eigentliche Kornbrand, eine neue Pilzart. Flora **32**, 209.
17. SAMPSON, K. and DAVIS, D. W., 1927: The influence of *Tilletia tritici* (Bjerk.) Wint. and *Tilletia laevis* Kühn on the growth of certain wheat varieties. Ann. appl. Biol. **14**, 83—104. Zitiert nach ZILLIG (24).
18. VILKAITIS, V., 1930: Kietosios Kviečiu kules [*Tilletia tritici* (Bjerk.) Wint.] Kosmos (Litauen).
19. VOLKART, A., 1939: Der Roggensteinbrand (*Tilletia secalis* [Corda] Kcke.). Ber. Schweiz. Bot. Ges. **49**, 495—503.
20. WAGNER, F., 1948: Über das Auftreten von Zwergsteinbrand in Bayern. Pflanzenschutz **1**, 1—2.
21. — —, 1950: Auftreten, Sporenkeimung und Infektion des Zwergsteinbrandes an Weizen. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz **1** (45), 1—14.
22. WARMBRUNN, K., 1952: Untersuchungen über den Zwergsteinbrand. Phytopath. Z. **19**, 441—482.
23. YOUNG, P. A., 1935: A new variety of *Tilletia tritici* in Montana. Phytopathology **25**, 40.
24. ZILLIG, H., 1932: *Ustilaginales* in SORAUER, Hdb. d. Pflkr. **3**, 5. Aufl.

*Aus der Bayerischen Landessaatzuchtanstalt Weihenstephan*

# Untersuchungen über die physiologische Spezialisierung des Weizenschwarzrostes

Von

K. Hoeser

Der Weizenschwarzrost tritt im süddeutschen Raum immer wieder gebietsweise stärker in Erscheinung. In manchen besonders rostgefährdeten Lagen sind die Ertragseinbußen derart hoch, daß der Weizenbau in Frage gestellt ist. Den Wünschen der privaten Züchtung entsprechend, hat die Bayerische Landessaatzuchtanstalt Weihenstephan in den letzten Jahren im Rahmen des laufenden Resistenzzüchtungsprogrammes das Schwergewicht auf die Züchtung schwarzrostresistenter Weizen gelegt. Zur Unterbauung dieser Arbeiten wurde mit Hilfe von ERP-Mitteln die laufende Erforschung des Rassenspektrums eingeleitet. In nachstehender vorläufiger Mitteilung sollen die bisherigen Ergebnisse dieser Untersuchungen zur Kenntnis gebracht werden.

Das zur Untersuchung gelangte Pilzmaterial wurde zum größten Teil gelegentlich verschiedener Reisen selbst gesammelt, sowie in dankenswerter Weise von verschiedenen Stellen in Österreich, Württemberg und Bayern eingesandt. Aus den Jahren 1952 und 1953 standen neben 30 Pilzpopulationen aus Weihenstephan 40 Herkünfte aus Bayern, zwei aus Württemberg und vier aus Österreich für die Rassenanalyse zur Verfügung.

Aus allen Pilzherkünften wurden Einsporlinien hergestellt und zur Ermittlung der Rassenzugehörigkeit auf das Testsortiment von Stakman und Levine (4) umgeimpft. Zu diesem Zweck erfolgte die Anlage des gesamten Testsortimentes in Tontöpfen mit einem Durchmesser von 30 cm, daß von jeder Sorte möglichst vier Pflanzen zur Infektion zur Verfügung standen. Nach Beimpfung des ersten Blattes mittels eines Wattepinsels kamen die ganzen Töpfe 24 Stunden unter eine Glasglocke und wurden dann nach Aufsetzen eines offenen Celluloidzylinders zur örtlichen Trennung der einzelnen Testsortimente im Glashaus bei 14 bis 20° C aufgestellt. Während der lichtarmen Wintermonate wurden die Testungen eingestellt. Die Identifizierung der einzelnen Einsporlinien im Stakman'schen Testsortiment erfolgte je nach Bedarf mit mehreren Wiederholungen. Die Arbeiten wurden besonders im ersten Jahr dadurch erheblich erschwert, daß anscheinend durch Fremdbestäubung eine Reihe von Testsorten unrein geworden waren und so im Rahmen der Infektionsbilder Aufspaltungen zeigten.

*Tabelle 1*

| Reg.-Bez. bzw. Land | Fundort | Herkunftsjahr | untersuchte Populat. | isolierte Einsporlinien | gefundene Rassen |
|---|---|---|---|---|---|
| Obb. | Weihenstephan | 1952 | 10 | 137 | 15, 21, 40, 77, 90, 144, 178 |
| | | 1953 | 20 | 73 | 21, 90 |
| | Osterseeon bei Ebersberg | 1952 | 1 | 19 | 21, 23, 90, 130 |
| | Mauern bei Fürstenfeldbruck | 1952 | 2 | 32 | 21, 90 |
| | | 1953 | 3 | 5 | 21, 90 |
| Ndb. | Büchling bei Altenbuch | 1952 | 1 | 11 | 17, 21, 90 |
| | | 1953 | 1 | 9 | 21, 90 |
| | Rinkam bei Straubing | 1952 | 4 | 45 | 15, 21, 40, 90, 130 |
| Opf. | Niedertraubling bei Regensburg | 1952 | 2 | 31 | 15, 21, 40, 90, 130 |
| | | 1953 | 2 | 15 | 21, 40, 89, 112 |
| | Landkreis Parsberg | 1952 | — | — | — |
| | | 1953 | 7 | 80 | 2, 21, 40, 89, 102, 111, 116, 144 |
| Ofr. | Galgenhof bei Herzogenaurach | 1952 | 1 | 14 | 21, 40, 90 |
| | | 1953 | — | — | — |
| Mfr. | Triesdorf bei Ansbach | 1952 | 1 | 14 | 21, 77, 90 |
| | | 1953 | — | — | — |
| | Mittelfranken | 1952 | 2 | 21 | 21, 77, 144 |
| | Böhmfeld, Krs. Eichstätt | 1952 | — | — | — |
| | | 1953 | 1 | 6 | 21, 90 |
| Ufr. | Unterfranken | 1952 | 1 | 10 | 21, 90, 144 |
| | | 1953 | — | — | — |
| Schw. | Straßmoos bei Neuburg | 1952 | 2 | 13 | 21, 90, 130 |
| | | 1953 | 2 | 28 | 21, 40, 90, 166 |
| | Herrlehof bei Donauwörth | 1952 | 1 | 2 | 90, 130 |
| | | 1953 | 1 | 4 | 21, 44 |
| | Urfahrhof bei Donauwörth | 1952 | 1 | 10 | 21, 130, 144 |
| | Klosterzimmern bei Nördlingen | 1952 | 1 | 10 | 17, 21, 90 |
| | | 1953 | — | — | — |
| | Markt bei Wertingen | 1952 | 1 | 15 | 17, 21, 40, 90, 144 |
| | | 1953 | — | | — |
| | Berg bei Weißenhorn | 1952 | 1 | 7 | 17, 21, 90, 144 |
| | | 1953 | — | | — |
| | Niederrieden bei Memmingen | 1952 | 1 | 1 | 90 |
| | | 1953 | — | — | — |
| Wrttgb. | Hohenheim | 1952 | 1 | 7 | 21, 90 |
| | Hohebuch bei Waldenburg | 1953 | 1 | 19 | 21, 144 |
| Österreich | Rinn bei Innsbruck (Tirol) | 1953 | 1 | 10 | 15, 21, 34 |
| | Reichersberg Niederösterr. | 1953 | 3 | 11 | 21 |

*Tabelle 2*

| Rasse | Pilzherkünfte, in denen die jeweilige Rasse festgestellt wurde | | | | Auftreten in Europa bereits nachgewiesen durch: |
|---|---|---|---|---|---|
| | Gesamtzahl | | % | | |
| | 1952 | 1953 | 1952 | 1953 | |
| 2 | — | 2 | — | 4,8 | Hassebrauk (Deutschland) (1) |
| 15 | 5 | 1 | 14,7 | 2,4 | Garbowski (Polen) (1) |
| 17 | 4 | — | 11,7 | — | Hassebrauk (Dtschl.), Garbowski (Pol.), Dodoff (Bulgarien), Sibilia (Italien) (1) |
| 21 | 31 | 28 | 91,2 | 66,7 | Hassebrauk (Dtschl.), Garbowski (Polen) (1), Lasser (Österreich) (2), s'Jakob (Holland) (3) |
| 23 | 1 | — | 2,94 | — | Hassebrauk (Dtschl.) (1) |
| 34 | — | 1 | — | 2,4 | Hassebrauk (Dtschl.), Garbowski (Polen), Dodoff (Bulg.) (1) |
| 40 | 9 | 3 | 26,5 | 7,1 | Hassebrauk (Dtschl.), Kummer (Dtschl.), Garbowski (Polen), Dodoff (Bulg.), Sibilia (Ital.) (1) |
| 44 | — | 1 | — | 2,4 | |
| 77 | 7 | — | 20,6 | — | |
| 89 | — | 4 | — | 9,5 | |
| 90 | 26 | 15 | 76,5 | 35,7 | Lasser (Österr.) (2) |
| 102 | — | 1 | — | 2,4 | |
| 111 | — | 1 | — | 2,4 | |
| 112 | — | 1 | — | 2,4 | |
| 116 | — | 1 | — | 2,4 | Dodoff (Bulg.) (1) |
| 130 | 8 | — | 23.5 | — | Scheibe (Dtschl.) (1) |
| 144 | 6 | 2 | 17,7 | 4,8 | Dodoff (Bulg.) (1) |
| 166 | — | 1 | — | 2,4 | |
| 178 | 1 | — | 2,94 | — | |

Zahl der untersuchten Populationen: 1952: 34 = 100 %,
1953: 42 = 100 %.

Die Ergebnisse der Analysierung der Schwarzrostherkünfte sind in den beiden Tabellen I und II zusammengefaßt. Eine Reihe von Rassen, die bereits in den 30er Jahren insbesondere von Hassebrauk (5) aufgefunden wurden, konnte erneut bestätigt werden. Die damals als Hauptrasse festgestellte Rasse 14 trat in den bisherigen Untersuchungen überhaupt nicht in Erscheinung. Dafür schoben sich die Rasse 21 und die sehr ähnliche Rasse 90 als Hauptrassen in den Vordergrund. Aus 91 % aller im Jahre 1952 gesammelten Schwarzrostherkünften konnte die Rasse 21, aus 76 % die Rasse 90 isoliert werden. Auch in den Pilzherkünften aus dem Jahre 1953 bildeten die Rasse 21 mit 67 % und die Rasse 90 mit 36 % Hauptbestandteile der Populationen. Die Rassen 21 und 90 wurden bereits durch Lasser (2) in vierjährigen Rostbonitierungen in Kärnten 1947—1950 festgestellt. Nach persönlicher Mitteilung von s'Jakob-Wageningen (3) soll auch in Holland und in Frankreich die Rasse 21 als Hauptrasse anzusprechen sein. In Süd-

deutschland dürften ferner von gewisser Bedeutung die Rassen 40 und 144 sein. Die Rasse 40 wurde bereits 1934/35 durch Hassebrauk (5) als eine Hauptrasse ermittelt.

Für den Erfolg einer planmäßigen Resistenzzüchtung ist es wichtig, dem Auftreten gefährlicher Rassen möglichst rasch durch Einkreuzung resistenter Formen zu begegnen und so die Resistenzbasis systematisch zu erweitern. Um den weiteren Arbeiten eine festere Grundlage zu geben, wurden Sommer- und Winterweizensortimente aufgestellt, die Weizen mit verschiedenen Resistenz-Genen enthalten. Der Anbau sowie die Beobachtung dieser Sortimente auf Krankheitsbefall wird durch großzügiges Entgegenkommen der beteiligten Stellen in dankenswerter Weise auf einer Anzahl von über die Bundesrepublik und Österreich verteilten Beobachtungsstellen durchgeführt. Es sollen diese Beobachtungen im Laufe der Jahre wertvolle Hinweise für den weiteren Aufbau der Resistenzzüchtung liefern. Auch für die jährlich weiterlaufenden Untersuchungen der physiologischen Spezialisierung des Weizenschwarzrostes sollen diese Stellen feste Ausgangspunkte bleiben.

## Zusammenfassung

Im Jahre 1952 und 1953 wurden 76 verschiedene, meist bayerische Schwarzrostherkünfte auf ihre Rassenzusammensetzung untersucht. Als Hauptrassen konnten die Rassen 21 und 90 ermittelt werden. Ferner wurden aufgefunden die Rassen 2, **15**, 17, 23, 34, **40**, 44, 77, 89, 102, 111, 112, 116, 130, **144**, 166 und 178.

## Literaturverzeichnis

1. Isenbeck, K., 1950: Resistenz gegen pflanzliche Schädlinge, Handb. Pflanzenzüchtg., Teil Züchtung des Weizens. Paul Parey, Berlin. 421—458.
2. Lasser, E., 1951: Die Züchtung schwarzrostresistenter Weizensorten für den Alpenraum, „Die Bodenkultur" **5**, 67—75.
3. s'Jakob, 1953: (Holland) persönliche Mitteilung.
4. Stakman, Levine, Loegering, 1944: Identification of physiologic Races of *Puccinia graminis tritici*. United States Department of Agriculture — Agricultural Research Administration, Bureau of Entomology and Plant Quarantine.
5. Hassebrauk, K., 1939: Untersuchungen über die physiologische Spezialisierung des Weizen- und Haferschwarzrostes in Deutschland im Jahre 1937. Arb. Biol. Reichsanstalt f. Land- und Forstwirtsch. **22**, 479—482.
6. Kummer, H., 1939: Untersuchungen über die biologische Spezialisierung des Schwarzrostes in Württemberg. Z. Pflanzenkrankh. u. Pflanzensch. **49**, 65—76.

*Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem (Institut für Pflanzenschutzmittelforschung)*
*Leiter: Dr. Horst Müller*

# Untersuchungen über die Ursachen von Beizfehlschlägen bei der Bekämpfung des Weizensteinbrandes (*Tilletia tritici* [Bjerk] Winter)*)

Von

H. Müller und G. Schuhmann

*Mit 3 Abbildungen*

Inhalt: Einleitung. — I. Die Wirkung von Beizmitteln auf verschiedene Brandpopulationen im Feldversuch. — II. Die Wirkung von Beizmitteln auf verschiedene Brandpopulationen in Laboratoriumsversuchen. a) Schlämmplattenversuch; b) Sporenkeimung auf naßbeizmittelhaltigen Lösungen; c) Keimung naßgebeizter Sporen auf Kalziumnitratlösung; d) Sporenkeimung auf beizmittelhaltigen Agarböden; e) Keimung von Zwergbrandsporen auf beizmittelhaltigen Agarböden; f) Quecksilber-Empfindlichkeit und Keimungsgeschwindigkeit der Brandpopulationen. — III. Umwelteinflüsse auf die Beizwirkung. a) Bodentemperatur; b) Bodenfeuchtigkeit. — IV. Besprechung der Versuchsbefunde. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis

## Einleitung

Die Meldungen über zunehmendes Auftreten des Weizensteinbrandes auch in vorschriftsmäßig gebeizten Beständen sind vor allem aus dem süddeutschen Raum seit 1940 so häufig geworden, daß ernste Ertragsausfälle eintraten und weiterhin zu befürchten sind. Besonders den Bedingungen der Saatenanerkennung war auch mit Hilfe sorgfältiger Beizung vielfach nicht zu genügen.

Obwohl das Beizen von Getreidesaatgut in großem Umfange seit langem mit bestem Erfolg durchgeführt wird, sind gelegentlich auch früher Fehlschläge vorgekommen. Krause (1932) fand 1929 bei einer Weizensorte nach einer Behandlung mit Germisan (cyanmercurikresolnatriumhaltig) noch einen Brandbefall von 25 %, und im darauffolgenden Jahre wurden bei der gleichen Weizensorte nach einer Beizung mit Uspulun (chlorphenolquecksilber-

*) Die vorliegende Arbeit wurde mit ERP-Mitteln unterstützt. Wir möchten den zuständigen Behörden auch hier unseren Dank aussprechen.

haltig) 50 % oder mehr brandige Ähren festgestellt. WINKELMANN ist 1935 derartigen Ausfällen nachgegangen und hat festgestellt, daß der erreichbare Schutz gegen eine Infektion durch Beizung im Tauch- und Benetzungsverfahren bei stärkerem Besatz mit Brandsporen abnimmt. Bodeninfektion und erneute Verseuchung des Saatgutes zwischen Beizung und Aussaat konnten nach seinen Beobachtungen damals kaum den stärkeren Steinbrandbefall verursacht haben.

Die in letzter Zeit häufigeren Beizfehlschläge lassen sich nicht — wie zunächst ebenfalls vermutet wurde — durch erneute Verseuchung des Saatgutes nach der Beizung erklären, da das Saatgut in vielen anerkannten Zuchtbetrieben unter Einhaltung größter Sauberkeit behandelt wird. Zudem werden meist Trockenbeizmittel angewendet, die vorwiegend eine sekundäre Beizwirkung entfalten. Von KIRCHNER (1953) letzthin mitgeteilte Versuchsergebnisse zeigen zwar, daß eine Nachinfektion eine bereits erfolgte Beizung ungünstig beeinflussen kann; doch könnte der beobachtete höhere Befall hier auch allein auf die stärkere Sporenmenge, die durch die wiederholte „Infektion" an die Körner gebracht wurde, zurückzuführen sein, also unabhängig von dem Zeitpunkt der Kontamination der Sporen mit den Weizenkörnern. PICHLER (1951), der ebenfalls in richtig gebeizten Beständen manchmal ziemlich starken Steinbrandbefall beobachtet hat, weist darauf hin, daß die Beizung auch von der Resistenz einer Weizensorte gegen den Erreger abhängig ist, da eine widerstandsfähigere Sorte den Beizerfolg erleichtert und noch bei sonst ungünstigen Bedingungen sichert.

Die hier festgestellten Unterschiede genügen aber nicht, größere Beizfehlschläge zu erklären. So bleibt die von WINKELMANN (1935), RADEMACHER (1951) und GASSNER (1952) geäußerte Vermutung, daß im Laufe der Zeit Biotypen des Pilzes aufgetreten sind, die gegenüber den gebräuchlichen Hg-haltigen Beizmitteln widerstandsfähig sind und daher trotz Saatgutbeizung den in stärkerem Maße auftretenden Steinbrandbefall verursachen können. Diese Vermutungen sind aber noch nicht bestätigt.

Daher sollte zunächst untersucht werden, ob Sporenpopulationen von *Tilletia tritici* aus den neuerdings gemeldeten Befallsgebieten eine verschiedene Widerstandsfähigkeit gegenüber den gebräuchlichen Hg-haltigen Beizmitteln besitzen.

Für die Untersuchungen standen Sporenherkünfte aus Bayern (München, Straubing, Regensburg, Ingolstadt), Württemberg (Kreise Ulm, Heilbronn, Aalen, Leonberg), der Eifel, Bonn, Münster und Berlin zur Verfügung, die zum größten Teil in gebeizten Beständen gesammelt worden waren. Da derartige Brandpopulationen aus einem Rassengemisch bestehen, konnten natürliche Unterschiede im Verhalten gegen die Beizmittel nur in geringerer Schärfe hervortreten. Doch konnte eine weitgehende Selektion durch die Beizung schon angenommen werden, so daß die aus den gebeizten Weizenbeständen gesammelten Brandsporen widerstandsfähigen Stämmen angehören und daher gegenüber den Beizmitteln einheitlicher reagieren. Die Untersuchungen wurden als Feld- und Laboratoriumsversuche durchgeführt.

*Tabelle 1*

*Tilletia tritici*-Befall mit verschiedenen Brandpopulationen nach Beizung

Durchschnittlicher Befall in % brandiger Ähren von je 3 Parzellen à 3 qm

Weizensorte: Mauerner begrannter Dickkopf

Aussaat: 21. 10. 52 | Aussaatmenge: 10 g/qm | Infektion: 200 mg Sporen je 100 g Weizen
Auflauf: 14. 11. 52 | Auswertung: 20.—24. 7. 53 | Beizung: entsprechend 150 g/100 kg

| Sporen-herkunft | unbe-handelt | Trockenbeizmittel | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Hg I | Hg II | Hg III | Hg IV | Hg-frei |
| N 1 | 71 | 0,53 | 0 | 0,08 | 0,21 | 0,15 |
| N 2 | 69 | 1,6 | 0,21 | 0 | 0,26 | 0,08 |
| N 3 | 75 | 0,34 | 0,13 | 0,33 | 0,27 | 0,23 |
| N 4 | 78 | 1,03 | 0 | 0,33 | 0,53 | 0,03 |
| N 5 | 78 | 0,38 | 0,11 | 0,02 | 0,10 | 0,18 |
| N 6 | 68 | 0,46 | 0,05 | 0,01 | 0,01 | 0,02 |
| N 7 | 90 | 1,5 | 0,06 | 0,26 | 1,1 | 0,08 |
| N 9 | 80 | 0,1 | 0,17 | 0,09 | 0 | 0 |
| N 11 | 82 | 0,59 | 0,06 | 0,45 | 0 | 0,03 |
| N 14 | 65 | 0,78 | 0,06 | 0,16 | 0,25 | 0,12 |
| N 17 | 76 | 0,56 | 0,03 | 0,25 | 0,37 | 0,23 |
| N 18 | 64 | 0,44 | 5,2 | 0,06 | 0,37 | 0,33 |

## I. Die Wirkung von Beizmitteln auf verschiedene Brandpopulationen im Feldversuch

In einem nach den Richtlinien für die Beizmittelprüfung angelegten Feldversuch wurden zwölf Steinbrandpopulationen zur Weizeninfektion benutzt. Die Beizung erfolgte mit einem Hg-freien, chlornitrobenzolhaltigen Beizmittel und mit vier Hg-haltigen, handelsüblichen Beizmitteln.

Die Befunde einer Versuchsreihe sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Daraus geht hervor, daß die einzelnen Sporenherkünfte durch eine Beizung unterschiedlich niedergehalten werden können. Keine Sporenherkunft reagierte gegenüber allen Hg-haltigen Beizmitteln in gleicher Weise. Die Niederhaltung des Befalls auf 0,1 % oder weniger Brandähren mit wenigstens einem der vier Hg-haltigen Beizmittel gelang zwar bei elf von den zwölf eingesetzten Sporenherkünften; jedoch ist bemerkenswert, daß dieser Beizerfolg bei verschiedenen Beizmitteln auftritt und daß einige Sporenherkünfte — N 2, N 4, N 7, N 14, N 17 und N 18 — zugleich unter den drei anderen Beizmitteln erheblich höhere Befallszahlen erreichen. Die Sporenherkünfte N 1, N 5 und N 11 sind jeweils von zwei Beizmitteln, die Herkünfte N 8 und N 9 von je drei Beizmitteln auf 0,1 % oder weniger Befall unterdrückt worden.

Diese Unterschiede der Widerstandsfähigkeit gegen die Beizung können Eigentümlichkeit der einzelnen Sporenrassen sein; sie könnten aber zum Teil ebenso aus dem Rassengemisch erklärt werden, das zunächst verwendet werden mußte.

Eine allgemeine Quecksilberfestigkeit liegt demnach bei keiner Sporenherkunft vor. Immerhin fallen die Herkünfte N 3, N 4, N 7, N 14 und N 18 durch stärkere Befallszahlen, d. h. durch größere Widerstandsfähigkeit auf. Dabei verdient besondere Beachtung, daß N 3, N 17 und N 18 zugleich die größten Befallswerte nach der Behandlung mit dem Hg-freien Beizmittel aufzuweisen haben.

Es ist damit zu rechnen, daß die unterschiedliche Widerstandsfähigkeit deutlicher in Erscheinung treten wird, wenn die Populationen zuvor über dieselbe Weizensorte vermehrt worden sind, die auch im Versuch verwendet wird, weil hierbei die gegen die betreffende Sorte aggressivsten Brandrassen aus der Population ausgelesen werden. Dies muß sich in den Befallszahlen der in bestimmten Anbaugebieten häufig wiederkehrenden Sorten auswirken.

*Tabelle 2*

Widerstandsfähigkeit von Brandpopulationen gegen Hg-haltige Trockenbeizmittel (Schlämmplattenversuch)

Durchschnittszahlen der je Kornabdruck gekeimten Sporen nach 9 Tagen

Die Sporenherkünfte sind Vermehrungen über:

U = unbehandelten Weizen M = Hg IV - behandelten Weizen

C = Hg I - behandelten Weizen S = Hg III „ „ (s. Tabelle 1)

Versuchstemperatur: 10° C

| Beizmittel je dz Weizen | Sporenherkunft | Durchschn. Zahl der gekeimten Sporen je Kornabdruck | | | | Gesamtdurchschnitt | % Befall im Feldvers. nach Beizung*) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1. Vers. | 2. Vers. | 3. Vers. | 4. Vers. | | |
| Hg I 200 g | 302 C | 11,7 | 7,3 | 7,0 | 10,8 | 9,2 | 1,6 |
| | 304 C | 17,5 | 13,8 | 7,2 | 16,9 | 13,9 | 1,03 |
| | 307 C | 15,5 | 8,8 | 4,2 | 17,5 | 11,5 | 1,5 |
| | 314 C | 16,2 | 9,0 | 13,8 | 17,8 | 14,2 | 0,78 |
| | 303 U | 6,2 | 4,2 | 6,6 | 2,5 | 4,9 | 0,34 |
| | 305 U | 7,0 | 4,8 | 6,3 | 5,2 | 5,8 | 0,38 |
| | 309 U | 5,5 | 4,3 | 4,9 | 3,4 | 4,5 | 0,1 |
| | 318 U | 5,2 | 4,4 | 5,5 | 0,8 | 4,0 | 0,44 |
| Hg IV 150 g | 317 M | 11,1 | 13,0 | 9,0 | | 11 | 0,37 |
| | 318 M | 7,1 | 5,4 | 6 | | 6 | 0,37 |
| | 306 U | 3,9 | 0,7 | 3,2 | | 3 | 0,01 |
| | 309 U | 7,1 | 3,7 | 4,1 | | 5 | 0 |
| | 311 U | 5,9 | 3,4 | 4,5 | | 5 | 0 |
| Hg III 150 g | 303 S | 1,8 | 4,6 | 0,32 | 3,9 | 2,7 | 0,33 |
| | 304 S | 1,2 | 3,8 | 0,55 | 3,2 | 2,2 | 0,33 |
| | 307 S | 0,5 | 9,6 | 0,6 | 2,9 | 3,4 | 0,26 |
| | 302 U | 0,4 | 1,8 | 0,08 | 1,1 | 0,8 | 0 |
| | 305 U | 2,0 | 4,9 | 0,05 | 1,2 | 2,0 | 0,02 |
| | 306 U | 0,3 | 1,0 | 0 | 0,9 | 0,6 | 0,01 |
| | 318 U | 0,2 | 1,2 | 0 | 0,8 | 0,6 | 0,06 |

*) Im Feldversuch (Tabelle 1) wurde das Sporenmaterial der Elterngeneration verwendet.

## II. Die Wirkung von Beizmitteln auf verschiedene Brandpopulationen in Laboratoriumsversuchen

### a) Schlämmplattenversuch

Zur genaueren Erfassung des unterschiedlichen Verhaltens der Sporenpopulationen gegen die Beizmittel im Feldversuch sind Beizversuche im Laboratorium nach der von GASSNER (1943) angegebenen Schlämmplattenmethode mit infizierten und gebeizten Körnern durchgeführt worden. Auf die mit Lehmbrei gefüllten Petrischalen (⌀ 13 cm) wurden nach kurzem Stehenlassen Filtrierpapierscheiben aufgelegt, um beim beschleunigten Abtrocknen der Schalen das Aufreißen des Lehmbreies zu vermeiden.

Zu diesen Versuchen sind vorwiegend die vom Feldversuch in den gebeizten Parzellen und in unbehandelten Kontrollparzellen gesammelten Sporenpopulationen verwendet worden. Die Versuche wurden in der Regel bei 5 ° und 10 ° C durchgeführt. Die Weizenkörner wurden mit 5 g Sporen auf 100 g Saatgut infiziert und bei 10 ° Standortstemperatur nach sieben Tagen, bei 5 ° Standortstemperatur nach 15 Tagen entnommen. Höhere Temperaturen erwiesen sich als ungeeignet, da eine zu rasche Verunreinigung der Kornabdrücke durch andere Pilze erfolgte. Bei der Auswertung wurde die Zahl der an den Kornabdrücken gekeimten Sporen (Kranzkörperchen) festgestellt.

Die in Tabelle 2 eingetragenen Zahlen geben ein Beispiel von Unterschieden in der Widerstandsfähigkeit der Brandpopulationen gegen das verwendete Beizmittel. Unmittelbar zu vergleichen sind jeweils die auf einer Erdschale (senkrechte Spalte) festgestellten Werte, da die Beizwirkung vom Feuchtigkeitsgehalt des geschlämmten Bodens beeinflußt wird und die Versuchsschalen nicht auf einen ganz gleichbleibenden Feuchtigkeitsgehalt eingestellt werden können. Relativ betrachtet sind die Unterschiede von Versuchsreihe zu Versuchsreihe gleichgeblieben (senkrechte Spalten 3—6); z. B. keimten nach Beizung mit Hg I bei den widerstandsfähigen Populationen (302 C—314 C) durchschnittlich mehr als doppelt so viele Sporen wie bei den Populationen 303 U—318 U. Die höheren Keimzahlen bei den Brandherkünften 302 C—314 C sind gegenüber 303 U—318 U mit der üblichen Überschreitungswahrscheinlichkeit $\varepsilon = 0{,}0026$ nach der t-Methode (KOLLER, 1953) statistisch gesichert, wenn die Einzelwerte zugrunde gelegt werden.

Das Verhalten der Brandpopulationen gegen die Beizmittel weist zu den im Feldversuch festgestellten Befallszahlen (letzte Spalte) eine deutliche Parallelität auf. Ebenso sind die Keimzahlen nach Behandlung mit Hg IV und Hg III bei den Populationen am höchsten, die sich im Feldversuch als widerstandsfähiger erwiesen hatten (317 M, 318 M, 303 S, 304 S und 307 S). Es zeigten also die Sporenvermehrungen im Laborversuch die gleichen Eigenschaften wie das Ausgangsmaterial; daher kann eine genetisch bedingte Widerstandsfähigkeit angenommen werden.

Gleichartige Versuche wurden zur Ermittlung der Widerstandsfähigkeit von jeweils zehn bis zwölf Sporenpopulationen gegen weitere Trockenbeizmittel durchgeführt. In Tabelle 2 a ist die ausführliche Auswertung eines

Beispiels wiedergegeben. Auf jeweils einer Erdschale (⌀ 13 cm) wurden hier zehn Brandpopulationen durch Auslegen von zehn infizierten und gebeizten Weizenkörnern je Population untersucht (senkrechte Spalten). Die Hälfte der Versuchsschalen (jeweils vier) wurde bei 5 ° C und die andere Hälfte bei 10 ° C aufgestellt. Die Zählung der gekeimten Sporen wurde einheitlich 20 Tage nach dem Ausstecken der Körner vorgenommen, weil im allgemeinen bei der ersten Kontrolle nach neun Tagen bei 10 ° erst eine schwache Keimung eingesetzt hatte, und von den niedrigeren Zahlen eine geringere Genauigkeit zu erwarten war. Die bei 5 ° C nach 30 Tagen wiederholte Auswertung ergab eine weitere Zunahme der Keimzahlen; sie wurde aber in die Tabelle nicht mit aufgenommen, da die Unterschiede gleichgeblieben waren.

*Tabelle 2a*

Die Widerstandsfähigkeit von Brandpopulationen gegen Trockenbeizung im Schlämmplattenversuch
Beizmittel: Hg IV 100 g/100 kg

| Sporenpopulation | Zahl der an 10 Kornabdrücken gekeimten Sporen nach 20 Tagen bei 5° C | | | | | 10° C | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Versuchsschalen | | | | Mittel | Versuchsschalen | | | | Mittel |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1–4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1–4 |
| 304 M | 230 | 188 | 205 | 114 | 184 | 196 | 190 | 124 | 90 | 150 |
| 307 M | 241 | 179 | 225 | 87 | 183 | 212 | 124 | 243 | 69 | 162 |
| 314 M | 256 | 112 | 169 | 75 | 153 | 156 | 105 | 128 | 84 | 118 |
| 317 M | 229 | 177 | 295 | 243 | 236 | 201 | 119 | 147 | 225 | 173 |
| 318 M | 60 | 85 | 77 | 91 | 78 | 74 | 101 | 62 | 37 | 68 |
| 301 U | 91 | 119 | 102 | 72 | 96 | 76 | 49 | 41 | 64 | 57 |
| 305 U | 154 | 143 | 158 | 129 | 146 | 130 | 115 | 109 | 140 | 123 |
| 306 U | 1 | 12 | 33 | 9 | 14 | 21 | 16 | 5 | 3 | 11 |
| 311 U | 249 | 96 | 211 | 219 | 194 | 146 | 250 | 137 | 78 | 153 |
| 309 U | 81 | 135 | 126 | 123 | 116 | 214 | 176 | 108 | 72 | 142 |
| Summe | 1592 | 1246 | 1601 | 1162 | | 1426 | 1245 | 1104 | 862 | |

Die Keimzahlen für eine Sporenpopulation schwanken von Versuchsschale zu Versuchsschale infolge des unterschiedlichen Feuchtigkeitsgehaltes der geschlämmten Erde, so daß eine Durchschnittsberechnung keine genaueren Werte liefert. Es wurde daher nach dem Beispiel der Tabelle 2 b eine prozentuale Bewertung vorgenommen. Hier ist der Anteil in % gekeimter Brandsporen einer Population von der Summe der in einer Schale bei allen zehn Populationen gekeimten Sporen angegeben. Der erste Wert 14,5 % in Tabelle 2 b für die Population 304 M gibt demnach den Prozentwert der 230 gekeimten Sporen gegenüber der „Schalensumme" 1592 (zweite senkrechte Spalte in Tabelle 2 a) wieder. In gleicher Weise errechnen sich die übrigen Prozentzahlen. Durch diese Berechnungsart werden die Werte der Wiederholungsreihen vergleichbar. Die Giftfestigkeit einer Brandpopulation

zeigt sich so bei beiden Versuchstemperaturen in fast gleicher Weise. Die empfindlichste Brandpopulation ist 306 U mit einem durchschnittlichen Anteil von 1 und 1,6 %. Bei der widerstandsfähigsten 317 M sind 17 und 10mal so viele Sporen gekeimt.

*Tabelle 2b*

Die Widerstandsfähigkeit von Brandpopulationen gegen Trockenbeizung im Schlämmplattenversuch
Beizmittel: Hg IV 100 g/100 kg

| Sporenpopulation | Prozentanteil der je Brandpopulation gekeimten Sporen nach 20 Tagen bei 5° C | | | | | 10° C | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Versuchsschalen | | | | Mittel | Versuchsschalen | | | | Mittel |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1–4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1–4 |
| 304 M | 14,5 | 15 | 13 | 10 | 13,1 | 14 | 15 | 11 | 10 | 12,5 |
| 307 M | 15 | 14 | 14 | 7,5 | 12,6 | 15 | 10 | 22 | 8 | 13,8 |
| 314 M | 16 | 9 | 11 | 6,5 | 10,6 | 11 | 8,5 | 12 | 10 | 10,4 |
| 317 M | 14 | 14 | 18 | 21 | 16,8 | 14 | 9,5 | 13 | 26 | 15,6 |
| 318 M | 4 | 7 | 5 | 8 | 6 | 5 | 8 | 6 | 4 | 5,8 |
| 301 U | 6 | 9,5 | 6 | 6 | 6,9 | 5 | 4 | 4 | 7,5 | 5,1 |
| 305 U | 10 | 11 | 10 | 11 | 10,5 | 9 | 9 | 10 | 16 | 11 |
| 306 U | 0 | 1 | 2 | 0,8 | 1 | 1,5 | 1 | 0,5 | 3,5 | 1,6 |
| 311 U | 16 | 8 | 13 | 19 | 14 | 10 | 20 | 12,5 | 9 | 12,9 |
| 309 U | 5 | 11 | 8 | 11 | 8,8 | 15 | 14 | 10 | 8,5 | 11,9 |

*Tabelle 2c*

Die Widerstandsfähigkeit von Brandpopulationen gegen verschiedene Trockenbeizmittel im Schlämmplattenversuch

| Trockenbeizmittel | Sporenpopulation | Prozentanteil der je Brandpopulation gekeimten Sporen nach 20 Tagen bei 5° C | 10° C |
|---|---|---|---|
| Hg V | 314 U | 1,8 ± 1,8 | 7,0 ± 1,7 |
| | 306 U | 2,9 ± 2,1 | 4,0 ± 3,5 |
| | 305 U | 23,0 ± 5,1 | 10,0 ± 4,0 |
| Hg VI | 306 U | 2,5 ± 5,0 | 2,6 ± 1,7 |
| | 305 U | 16,0 ± 5,3 | 18,6 ± 8,4 |
| Hg VII | 307 U | 5,5 ± 2,4 | 4,5 ± 1,3 |
| | 311 U | 13,0 ± 2,7 | 12,8 ± 1,5 |
| Hg VIII | 301 U | 4,8 ± 1,5 | 5,2 ± 1,0 |
| | 305 U | 28,8 ± 1,0 | 18,4 ± 3,2 |
| Hg II | 307 U | 2,3 ± 0,5 | 5,5 ± 1,7 |
| | 318 A | 16,0 ± 1,4 | 19,3 ± 5,3 |
| Hg I | 309 U | 6,5 ± 0,6 | 5,0 ± 1,4 |
| | 368 | 13,5 ± 3,0 | 21,9 ± 2,9 |

In Tabelle 2 c sind die nach der gleichen Berechnungsart festgestellten Durchschnittswerte der Keimung weiterer Brandpopulationen mit den aus drei Wiederholungen errechneten wahren mittleren Fehlern angegeben. Von den geprüften Brandpopulationen (zehn bis zwölf je Beizmittel) wurde nur die gegenüber dem betreffenden Beizmittel empfindlichste und widerstandsfähigste eingetragen. Die Keimzahlen der restlichen acht bis zwölf Brandpopulationen liegen zwischen den angegebenen Extremen.

Wie sich die gefundenen Unterschiede bei der praktischen Bekämpfung auswirken können, wurde schon in Tabelle 2 aufgezeigt. Zur letzten Zusammenstellung ist noch zu bemerken, daß die Sporen 318 A, die gegen Hg II geprüft wurden, den Versuchsparzellen entnommen wurden, in denen nach Behandlung mit Hg II 5,2 % kranke Ähren gefunden wurden (siehe Tabelle 1, N 18).

Aus dem Verhalten der Brandpopulationen gegen die Beizmittel und den nachfolgend angestellten Keimversuchen geht hervor, daß sich die Brandpopulationen meist aus verschiedenen Rassen zusammensetzen, die auch gegenüber den Beizmitteln unterschiedlich reagieren. In den vorausgegangenen Versuchen konnte eine gewisse Einheitlichkeit in den Wiederholungsreihen dadurch erzielt werden, daß die verwendeten Sporen stets einem aus 20 Brandähren gewonnenen Sporengemisch entnommen worden sind.

### b) Sporenkeimung auf naßbeizmittelhaltigen Lösungen

Weiterhin wurde versucht, die Beeinflußbarkeit der verschiedenen Steinbrandpopulationen durch Hg-Verbindungen mit Hilfe von Naßbeizlösungen zu ermitteln. Zu diesem Zweck wurde zunächst eine 0,1 %ige Lösung eines Hg-haltigen Naßbeizmittels fortlaufend im Verhältnis 1 : 1 mit aqua d. dest. verdünnt, so daß eine logarithmische Verdünnungsreihe vorlag: 0,01 % 0,005 % usw. bis 0,000 019 531 250 %. Je 20 ccm dieser Lösungen, die außer dem Beizmittel 0.25 % Calciumnitrat enthielten, wurden in Zylindergläschen (Durchmesser 2,7 cm, Höhe 4 cm) gefüllt; auf jedes Gläschen wurden durchschnittlich 0,5 mg Sporen aufgestreut und bei 18 ° C und Dunkelheit aufgestellt. Zehn Tage nach Versuchsbeginn, nachdem der höchste Prozentsatz der Keimung auf den unbehandelten Kontrollösungen erreicht war, wurden je Sporenherkunft und Naßbeizmittelkonzentration 100 Sporen ausgezählt und der Teil als gekeimt angesehen, dessen Keimschläuche mindestens die Länge eines Sporendurchmessers erreicht hatten. Die Bildung der Basidiosporen (Kranzkörperchen) wurde in die Bewertung nicht mit aufgenommen, da sie der Sporenkeimung zahlenmäßig parallel verlief. Der auf den Lösungen gekeimte Sporenanteil wurde mit dem gleichzeitig auf reiner Calciumnitratlösung gekeimten Anteil bei jeder Herkunft verglichen; so wurde der Prozentsatz der nicht ausgekeimten („getöteten") Sporen ermittelt. Trägt man in einem Koordinatensystem für eine Herkunft auf der Ordinate mit metrischem Maßstab den Prozentsatz der „getöteten" Sporen ein und auf der Abszisse mit logarithmischem Maßstab den Beizmittelgehalt der Lösungen,

so ergeben die Schnittpunkte eine mehr oder weniger sigmoide Kurve. Der Kurvenverlauf für vier von den so untersuchten 18 Brandpopulationen ist in Abb. 1 wiedergegeben. Alle übrigen Werte der Keimungsunterdrückung für die restlichen Populationen liegen zwischen den für N 17 und N 12 gefundenen Kurven. Das Beispiel zeigt, daß die Kurven für die einzelnen Populationen nicht gleichartig verlaufen. Einige Populationen werden wie N 2 in den niedrigen Konzentrationen weniger geschädigt, in den höheren aber um so mehr, andere, wie N 17, haben bereits in den schwachen Beizlösungen starke Ausfälle, die aber durch die höheren Mittellösungen nicht in gleichem Maße gesteigert werden. Diese Unterschiede lassen sich mit der Annahme, daß die vorliegenden Populationen ein Rassengemisch darstellen können, nicht allein erklären; sondern offenbar reagieren die einzelnen Rassen auf die Einwirkung des Beizmittels verschieden. Die 100%ige Keimungsunterdrückung liegt bei den 18 Populationen zwischen den Konzentrationen $250 \times 10^{-5}$ und $500 \times 10^{-5}$. Nach dem Keimungsverlauf ist auf eine unterschiedliche Widerstandsfähigkeit der Brandherkünfte gegenüber dem Beizmittel zu schließen. Ein

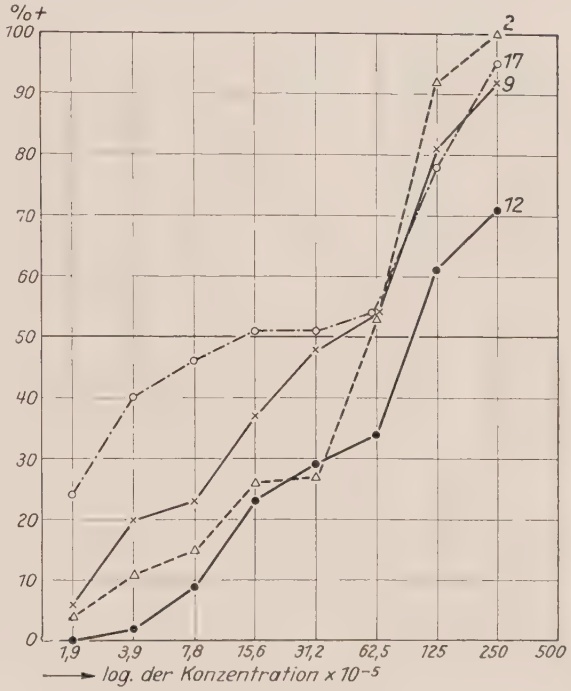



Abb. 1. Keimungsunterdrückung („Abtötung") in % bei Keimversuchen auf Naßbeize-haltigen Lösungen mit 4 Brandpopulationen
Versuchszeit: 10 Tage, Temperatur: 18 ° C
Brandpopulationen: N 2, N 9, N 12, N 17
Abszisse: logarithm. Maßstab, Konzentrationen der Beizlösungen von 0,000 019 . . . % bis 0,005 %
Ordinate: Keimungsunterdrückung aus dem Vergleich mit unbehandelten Kontrollösungen

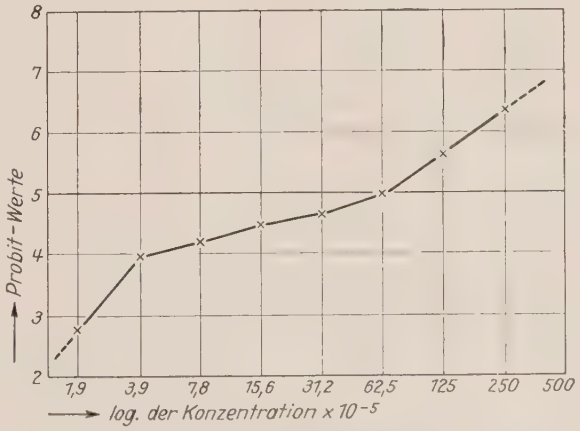



Abb. 2. Prozentuale Keimungsunterdrückung (Probitwerte) von Brandpopulationen als Funktion des Beizmittelgehaltes in den Keimlösungen

unmittelbarer Vergleich, etwa der $DL_{50}$-Werte, kann nicht vorgenommen werden, da die einzelnen Kurven mit den üblichen Verfahren nicht auf eine Regressionsgerade zu bringen sind. Die mit Hilfe des Probitverfahrens von BLISS (1935) aus den Durchschnittswerten der Keimungsunterdrückung bei allen 18 Populationen errechneten Werte ergeben statt der Regressionsgeraden als Regression das in Abb. 2 wiedergegebene Bild. Die beiden Knicke (Dosis $3{,}9 \times 10^{-5}$ und $62{,}5 \times 10^{-5}$) lassen auf zwei verschiedene Abwehrsysteme der Chlamydosporen, die der keimschädigenden Wirkung des Beizmittels einen Widerstand entgegensetzen, schließen. Danach erscheint das unterschiedliche Verhalten von Brandpopulationen gegen ein Beizmittel, wie es im Kurvenverlauf der Abb. 1 zum Ausdruck kommt, durch die Annahme erklärbar, daß die beiden Abwehrsysteme verschieden stark ausgebildet sind.

### c) Keimung naßgebeizter Sporen auf Calciumnitratlösung

In einem Tauchbeizversuch wurden die 18 Brandpopulationen in 0,1 %iger Hg-haltiger Naßbeizlösung ein oder sieben Minuten oder in Naßbeizlösung von 0,01 % oder 0,001 % Stärke 5, 10 oder 30 Minuten getaucht. Die Beizung erfolgte in Reagenzgläschen mit 15 ccm Beizmittellösung, in die jeweils 100 mg lose Chlamydosporen gegeben und sodann geschüttelt wurden. Nach der angegebenen Beizdauer wurden die Sporen zusammen mit den Beizlösungen auf Filtrierpapier geschüttet und dreimal mit 40 ccm Leitungswasser überspült. Die auf dem Filter vor einem Ventilator innerhalb von zwei Stunden zurückgetrockneten Sporen wurden zur Keimprüfung auf 0,25%ige Calciumnitratlösung gestreut und in einem dunklen Raum bei 18° C aufgestellt. Die nach fünf und zehn Tagen vorgenommene Auswertung von je 100 Sporen für jeden einzelnen Versuchsansatz ergab die Prozentzahlen der Keimung.

Nach einer Tauchbeizung von einer Minute in 0,1 %iger Lösung keimten die Sporen von vier Brandpopulationen innerhalb von zehn Tagen mit einem Anteil von 1 % (N 1) bzw. 0 bis 1 % (N 2, N 6 und N 10). Bei den restlichen 14 Brandpopulationen waren keine Sporen gekeimt. Mit einer Tauchzeit von sieben Minuten wurde die Keimung durch gleiche Lösungsstärken für 16 Populationen verhindert, während bei der Population N 1 wiederum 1 % und bei der Population N 2 wie vordem 0 bis 1 % Sporen gekeimt waren. Die 15 und 30 Minuten dauernde Tauchbeizung mit einer 0,1 %igen Lösung unterdrückte die Keimung bei allen 18 Populationen vollständig.

Bei den schwächeren Beizlösungen (0,01 % und 0,001 %) zeigte sich, daß die keimhemmende Wirkung der betreffenden Beizmittelkonzentrationen nach fünf Minuten Tauchzeit einen Höchstgrad erreicht hat, der auch durch längere Tauchzeiten nicht wesentlich zu erhöhen ist (Tabelle 3).

Zu dieser Tabelle konnten die Durchschnittswerte von 18 Brandherkünften zusammengefaßt werden, so daß sich jeder Einzelwert auf die Auswertung von 1800 Sporen stützt. Infolge des gleichen Verhaltens der Brandsporen bei verschiedenen Tauchzeiten in den 0,01 und 0,001%igen Beiz-

lösungen konnten die Durchschnittswerte der Keimung auch für jede Population aus den drei Tauchzeiten von 5, 10 und 30 Minuten zusammengenommen werden. So ergeben sich die Prozentwerte der Tabelle 4 aus der Auswertung von je 300 Sporen. Die auf Calciumnitratlösungen bei der unbehandelten Kontrolle (Spalte 2) erhaltenen niedrigen Keimprozente bei den Populationen N 13, N 12, N 10, N 14 und N 15 sind auf einen Anteil an Zwergbrandsporen (5 bis 31 % in der aufgeführten Reihenfolge) in den Sporensammlungen zurückzuführen.

*Tabelle 3*

Mittlere Keimprozente von 18 Brandpopulationen nach verschiedenen Tauchbeizen

| Tauchzeit in Minuten | Mittlere Keimprozente bei Konzentration der Naßbeize von | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0,01 % | | 0,001 % | | 0,001 % (Wdh.) |
| | nach 5 Tagen | nach 10 Tagen | nach 5 Tagen | nach 10 Tagen | nach 5 Tagen |
| 5 | 4,0 | 14,8 | 21,9 | 48,4 | 21,8 |
| 10 | 3,2 | 16,2 | 22,6 | 49,5 | 22,1 |
| 30 | 5,3 | 18,3 | 28,7 | 43,9 | 22,7 |

Die Unterschiede in der Empfindlichkeit der einzelnen Populationen gegenüber der Naßbeize sind mit den Ergebnissen des Keimversuches auf naßbeizhaltigen Lösungen, wobei das gleiche Beizmittel verwendet wurde, nicht in Übereinstimmung zu bringen, gleichgültig ob man nach Abb. 1 den unteren Kurvenverlauf, die $DL_{50}$-Werte oder die Keimungsunterdrückung bei den höchsten Konzentrationen heranzieht. Die Gründe können in der Versuchsanordnung gesucht werden, da im ersten Versuch die Sporen und Keimschläuche ständig in der Giftlösung liegen, wodurch die physiologisch bedingte Widerstandsfähigkeit das Keimungsbild bestimmt. Im zweiten Versuch könnte dagegen die Beschaffenheit der Sporenmembranen die ausschlaggebende Rolle spielen, weil die Sporen nur während der Tauchzeiten in der Beizlösung liegen, so daß die morphologische und chemische Beschaffenheit der Sporenmembranen die Einwirkung der Hg-Verbindung unterschiedlich beeinflussen kann.

### d) Sporenkeimung auf beizmittelhaltigen Agarböden

Die Beeinflußbarkeit der Sporenkeimung ist schließlich durch Ausstreichen von Sporenaufschwemmungen auf Agar mit einem Hg-haltigen Naßbeizmittelzusatz geprüft worden. Dazu wurden jeweils 20 ccm 2 %iger Wasseragar, der mit dem bisher verwendeten Naßbeizmittel so versetzt worden war, daß die Beizmittelkonzentrationen 0,0001 %, 0,0002 %, 0,0004 %, 0,0008 % und 0,0016 % betrugen, in Petrischalen (⌀ 9 cm) gegeben. Die Schalen wurden bei 10° C und bei Dunkelheit aufgestellt. Nach

10 und 20 Tagen wurden die Keimprozente an mindestens 100 Sporen festgestellt. Die maximale Keimung war im allgemeinen nach zehn Tagen bereits erreicht.

Auf diese Weise wurden 29 Brandpopulationen untersucht, die zum größeren Teil Vermehrungen der gesammelten Brandpopulationen darstellen und daher über einige Beizversuche mit Hg-haltigen Mitteln bereits ausgelesen worden waren. So konnte angenommen werden, daß das Sporenmaterial im wesentlichen wenig Hg-empfindliche Stämme enthielt.

Das Keimungsvermögen dieses Sporenmaterials betrug in der unbehandelten Kontrolle auf 2%igem Wasseragar ohne Beizmittelzusatz bei 19 Populationen mehr als 50 %, bei den restlichen zehn Populationen

*Tabelle 4*

Durchschnittswerte der Keimprozente von Sporenaussaaten auf Calciumnitratlösungen nach einer Tauchbeize mit einem Hg-haltigen Naßbeizmittel

| Brand-population | Keimung d. unbehandelten Kontr. nach 10 Tagen auf Ca-Nitratlösung | Keimung nach 5 Tagen | Keimung nach 10 Tagen | |
|---|---|---|---|---|
| | | Konzentration der Tauchbeize | | |
| | | 0,001 % | 0,001 % | 0,01 % |
| N 1 | 71 | 26 | 32 | 16 |
| 2 | 73 | 23 | 30 | 17 |
| 3 | 80 | 24 | 34 | 13 |
| 4 | 72 | 24 | 30 | 11 |
| 5 | 80 | 25 | 34 | 13 |
| 6 | 73 | 24 | 46 | 21 |
| 7 | 80 | 18 | 42 | 19 |
| 8 | 76 | 23 | 50 | 25 |
| 9 | 85 | 24 | 48 | 18 |
| 10 | 60 | 31 | 46 | 25 |
| 11 | 76 | 30 | 54 | 18 |
| 12 | 62 | 28 | 48 | 8 |
| 13 | 66 | 23 | 45 | 6 |
| 14 | 58 | 27 | 36 | 8 |
| 15 | 56 | 14 | 34 | 15 |
| 16 | 76 | 27 | 44 | 19 |
| 17 | 78 | 22 | 47 | 20 |
| 18 | 69 | 24 | 30 | 24 |

zwischen 2 und 20 %. Der Beizmittelgehalt von 0,0001 % bewirkte bei den in der unbehandelten Kontrolle nur schwach keimenden Populationen meistens eine Steigerung der Keimzahlen. Die übrigen Populationen wurden durch diesen bereits deutlich geschädigt. Völlige Keimungsunterdrückung wurde bei drei Populationen auf den 0,0008 % und bei den restlichen 26 auf den 0,0016 % beizmittelhaltigen Agarschalen erreicht. Die Empfindlichkeitsunterschiede liegen demnach zwischen diesen beiden Werten, also in engen Grenzen, ähnlich den Befunden der vorausgegangenen Keimversuche auf Beizlösungen. Eine gesetzmäßige Beziehung des Keimverhaltens auf Beizmittel-Agar zu den vorher geschilderten Keimungsversuchen ist nicht aufzuweisen.

### e) Keimung von Zwergbrandsporen auf beizmittelhaltigen Agarböden

Es ist denkbar, daß von *Tilletia tritici* und dem neuerdings stärker auftretenden Zwergsteinbrand (*Tilletia brevifaciens* G. W. Fischer) intermediäre Formen entstanden sind, die bei „Korninfektion" einen Befall verursachen und gegen Hg-haltige Beizmittel eine größere Widerstandsfähigkeit besitzen als die untersuchten *T. tritici*-Herkünfte. Bis jetzt sind solche Zwischenformen noch nicht bekanntgeworden. Falls sie aber existieren und infolge ihrer größeren Widerstandsfähigkeit gegen Beizmittel Mißerfolge bei der Bekämpfung verursachen, kann man annehmen, daß der Zwergbrand ebenfalls diese Eigenschaft besitzt. Zwar haben Böning, Wagner und v. Minckwitz (1953) inzwischen gezeigt, daß größere Unterschiede in der Empfindlichkeit dieser Sporenart gegen Hg-haltige Beizmittel im Vergleich zu Normalbrandsporen nicht zu erwarten sind. Es erschien aber angebracht, das Keimverhalten von Sporenherkünften des Zwergbrandes im gleichen Verfahren wie die hier geprüften Normalbrandsporen zu untersuchen.

Die dazu verwendeten Zwergbrandsporen wurden 1953 in den württembergischen und bayrischen Befallsgebieten gesammelt. Die Sporen einer Brandähre sind jeweils für eine Versuchsnummer (1 bis 26 Tabelle 5) verwendet worden, so daß bei jedem Versuch reine Rassen vorliegen dürften. Die Versuchsanstellung entsprach der im vorherigen Versuch unter Abschnitt d) angegebenen Methode. Die Keimschalen wurden in einem temperierten Gewächshaus bei 4 bis 6 ° C dem Tageslicht ausgesetzt. Die direkte Sonneneinstrahlung wurde durch eine übliche Gewächshausschattierung abgehalten. Die niedrige Temperatur wurde gewählt, um eine Beeinflussung der Sporenkeimung durch Bakterien oder andere Pilze zu vermindern, da die Keimung der Zwergbrandsporen bei 10 ° C offensichtlich durch stärkere Bakterienentwicklung unterdrückt wird. Das Keimmyzel zerfiel dabei auf den verunreinigten Schalen innerhalb einiger Tage, so daß nur wenige Basidiosporen gebildet wurden.

Das Keimverhalten der Sporenherkünfte wurde laufend beobachtet. Der durch Schätzung ermittelte Prozentsatz der Keimung von je einem Sporenaufstrich auf zwei Agarschalen sechs Wochen nach Versuchsansatz ist in Tabelle 5 wiedergegeben. Dabei wurden nur die Keimprozente der unbehandelten Kontrollreihe und der höheren Beizmittelkonzentrationen eingetragen, da bei niedrigem Beizmittelzusatz keine Keimschädigung mehr zu beobachten war; in fünf Fällen war hier sogar gegenüber der unbehandelten Kontrolle eine deutliche Keimförderung zu verzeichnen, was mit einer Unterdrückung des Bakterienwachstums zusammenhängen könnte; das Beizmittel könnte aber auch unmittelbar stimulierend auf die Keimung der Sporen gewirkt haben.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die einzelnen Zwergbrandrassen auf Wasseragar nach sechs Wochen sehr verschieden gekeimt waren. Sie unterschieden sich nicht im Keimvermögen, sondern nur in der Keimungsgeschwindigkeit, denn nach weiteren zwei Wochen waren auf den unbehandelten

Agarschalen von allen Brandrassen mindestens 50 % der Sporen ausgekeimt. Eine Auswertung des gesamten Versuches war zu diesem Zeitpunkt infolge stärkerer Verunreinigung der Agarschalen nicht mehr vorzunehmen.

*Tabelle 5*

Keimvermögen von Zwergbrandrassen auf Agarböden mit Beizmittelzusatz

Prozentsatz der Keimung sechs Wochen nach Versuchsbeginn geschätzt

| Brandsporen | % Naßbeizmittel-Gehalt in 2%igem Wasser-Agar | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 0 (Kontr.) | 0,0004 | 0,0008 | 0,0016 |
| 1–5 | 50 | 50 | 50 | 0 |
| 6 | 30 | 50 | 50 | 0 |
| 7 | 20 | 50 | 50 | 0 |
| 8 | 50 | 50 | 20 | 0 |
| 9 | 50 | 30 | 20 | 0 |
| 10 | 50 | 20 | 20 | 0 |
| 11 | 50 | 20 | 10 | 0 |
| 12 | 10 | 10 | 10 | 0 |
| 13–14 | 50 | 50 | 1 | 0 |
| 15 | 50 | 10 | 1 | 0 |
| 16 | 10 | 10 | 1 | 0 |
| 17 | 10 | 2 | 1 | 0 |
| 18 | 50 | 0 | 1 | 0 |
| 19 | 2 | 10 | 0 | 0 |
| 20 | 1 | 10 | 0 | 0 |
| 21 | 10 | 1 | 0 | 0 |
| 22 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 23 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| 24 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| 25–26 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Die 100 %ige Keimungsunterdrückung wurde durch den 0,0016 %igen Beizmittelzusatz bei allen Herkünften und durch den 0,0008 %igen Beizmittelzusatz bei fünf Brandrassen (Nr. 19 bis 23) erzielt. Demnach stimmt die Empfindlichkeit der Zwergbrandsporen gegenüber dem Beizmittel mit derjenigen der Normalbrandsporen überein, bei denen in gleicher Versuchsanstellung die völlige Keimungsunterdrückung ebenfalls mit einem 0,0008 und 0,0016%igen Beizmittelgehalt zu erzielen war.

Durch dieses Ergebnis verliert die Frage nach dem Aufkommen intermediärer Formen von Normal- und Zwergbrand zur Erklärung der verschiedenen Widerstandsfähigkeit gegenüber Hg-haltigen Beizmitteln an Bedeutung.

### f) Hg-Empfindlichkeit und Keimungsgeschwindigkeit der Brandpopulationen

Auf der Suche nach einer Methode, das unterschiedliche Verhalten der Brandpopulationen gegen die Beizmittel in kurzer Zeit festzustellen, wurde

auch die Keimgeschwindigkeit der Brandherkünfte untersucht, da das Keimverhalten speziell für *Tilletia*-Arten nach GASSNER (1938) als Hauptunterscheidungsmerkmal der Rassen herangezogen werden kann. Nach dem Beispiel der Abb. 3 wurde die Keimgeschwindigkeit von 48 Brandpopulationen und reinen Stämmen (Sporen einer Ähre) auf Calciumnitratlösung im Temperaturbereich von 0 bis 22 ° C ermittelt. Keimversuche auf Erdaufschlämmungen verliefen parallel. Abb. 3 zeigt die Keimungsgeschwindigkeit einer Brandpopulation auf Calciumnitratlösung bei verschiedenen Temperaturen. Die Keimungsgeschwindigkeit bei 6 ° C wurde z. B. so festgestellt, daß der Prozentsatz gekeimter Sporen nach 5, 8, 10, 22 und 29 Tagen an 100 bis 200 Sporen ermittelt wurde. An Hand des so gewonnenen Kurvenbildes läßt sich die Zeit, nach der 50 % der Sporen gekeimt waren, unmittelbar ablesen. Die Extreme dieser Zeiten lagen für reine Rassen auf geschlämmter Erde und Calciumnitratlösungen bei der Versuchstemperatur von 10 ° C zwischen 3 und 14 Tagen. GASSNER (1938) hat früher ähnliche Werte festgestellt. Im Durchschnitt keimten alle aus Nord- und Mitteldeutschland stammenden Herkünfte unter 10 ° C ein bis zwei Tage rascher als die in Bayern und Württemberg gesammelten Brandpopulationen. Eine Beziehung zwischen der Keimgeschwindigkeit und den in Feldversuchen nach Beizung aufgetretenen Befallszahlen war jedoch bisher nicht nachzuweisen.

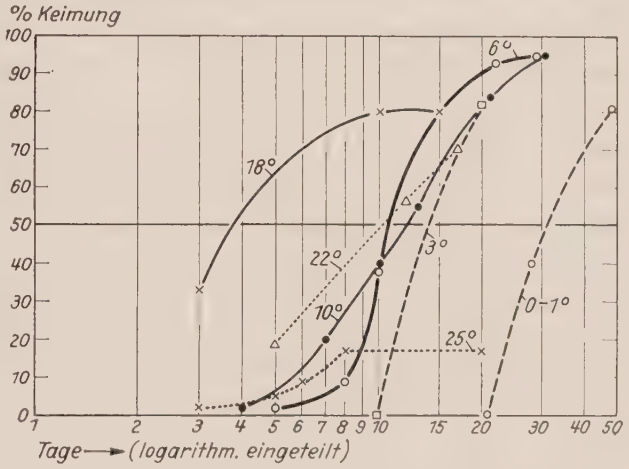



Abb. 3. Keimungsgeschwindigkeit einer *Tilletia tritici*-Herkunft bei verschiedenen Temperaturen auf 0,25 %iger Kalziumnitratlösung

### III. Umwelteinflüsse auf die Beizwirkung

Nach den vorliegenden Versuchsbefunden treten Sporenpopulationen auf, die mit Saatgutbeizmitteln unterschiedlich niederzuhalten sind. Daraus ist aber nicht zu folgern, daß größere Fehlschläge bei der Beizung allein auf die Ausbildung besonders resistenter Biotypen des Erregers zurückzuführen sind, sondern es muß offenbar bei solchen Fehlschlägen zu einem Zusammenwirken von mehreren, die Beizwirkung ungünstig beeinflussenden Faktoren kommen. Zu dieser Vermutung drängen die Beobachtungen, daß die Bekämpfungsmißerfolge nur in bestimmten Jahren, offenbar unabhängig von den bisher bekannten optimalen Befallsbedingungen für den Erreger auftreten. Einige

Anhaltspunkte für derartige Zusammenhänge haben sich aus Vorversuchen ergeben, in welchen die Bedeutung von Bodentemperatur und Bodenfeuchtigkeit für den Beizerfolg hervortreten konnte.

### a) Bodentemperatur

Sprague (1939) berichtet aus den USA, daß bei Winterweizen, der spät in zunehmend kalten und feuchten Böden ausgesät wird, die Bekämpfungsmaßnahmen an Wirksamkeit verlieren. Ob ähnliche Temperaturverhältnisse zur ungenügenden Beizwirkung in den deutschen Weizenschlägen beigetragen haben, ist nicht bekanntgeworden. Deshalb wurde in einem Topfversuch mit einem Sand-Komposterde-Gemisch in den vorgeschriebenen Aufwandmengen (200 g/100 kg) gebeizter Sommerweizen, Adlungs Allemannen, drei Monate in einem Gewächshaus bei konstanter Temperatur von 5 ° C herangezogen und dann bis zur Ausbildung der Ähren bei Temperaturen über 25 ° C kultiviert. Vom unbehandelten Weizen waren hier 80 % von 226 Ähren befallen. Die Befallszahlen für die mit zwei Hg-haltigen Beizmitteln behandelten Aussaaten lagen mit durchschnittlich 34 % von 329 Ähren und 2,1 % von 416 Ähren bedeutend höher, als bei entsprechenden Freilandversuchen beobachtet wurde. Die Gründe hierfür sind wahrscheinlich in der unterschiedlichen Auswirkung der Bodentemperatur auf die Entwicklungsvorgänge von Weizen und Brandsporen zu suchen. Bei einer Bodentemperatur von 5° C verharrt der Weizen etwa doppelt so lange im anfälligen Stadium wie bei einer Bodentemperatur von 10 ° C. Die in diesem Temperaturbereich weniger gehemmte Sporenkeimung bleibt in geschlämmtem Boden z. B. nach neun Tagen zwar noch verhältnismäßig niedrig; sie erreicht aber etwa nach der doppelten Zeit, also nach 20 Tagen, meist um ein Vielfaches erhöhte Werte. Da die im Boden erreichbaren Konzentrationen der Saatgutbeizmittel teilweise nur eine Verzögerung der Sporenkeimung herbeiführen können, treten bei längerem Liegen, auch nach Beizung, gekeimte Sporen so zahlreich auf, daß häufige Infektionen des Weizens bei Verlängerung des anfälligen Stadiums möglich sind. Der Umfang dieser Gefährdung wird durch Tabelle 6 veranschaulicht, in welcher die Keimzahlen verschiedener Brandpopulationen in geschlämmtem Boden bei den vorgenannten Temperaturen und Beobachtungszeiten wiedergegeben sind. Mit jedem Beizmittel wurden zehn bis zwölf mit verschiedenen Brandpopulationen infizierte Weizenproben in einer Stärke von 100 g/100 kg behandelt. Auf einer Erdschale ($\phi$ 13 cm) wurde dieser ganze Satz aus zehn Körnern für jede Population ausgesteckt, so daß auf eine Schale 120 Körner kamen. Die Körner sind bei 10 ° C nach fünf Tagen und bei 5 ° C nach 15 Tagen entnommen worden. Die in der Tabelle angegebenen Durchschnittswerte der Keimung sind durch Auswertung von vier Erdschalen, also von 4 × 100 bzw. 120 Kornabdrücken gewonnen worden. Die Versuchsschalen wurden möglichst auf den gleichen Feuchtigkeitsgehalt eingestellt. Die Temperaturunterschiede haben sich mit einer einzigen Ausnahme trotz Beizung im dargelegten Sinne ausgewirkt. Es kann also angenommen werden, daß Beizfehlschläge weitgehend durch niedrige Tempe-

raturen, die schon an der unteren Grenze der Befallstemperatur liegen, bedingt sind.

*Tabelle 6*

Die Abhängigkeit der Beizwirkung von der Temperatur

| Beizmittel (100 g/100 kg) | Zahl der durchschnittlich je Kornabdruck gekeimten Sporen in geschlämmtem Boden | |
|---|---|---|
| | 10 °C nach 9 Tagen | 5 °C nach 20 Tagen |
| unbehandelt | volle Keimung*) | volle Keimung*) |
| Hg I | 0,71 | 54,8 |
| Hg II | 0,52 | 15,5 |
| Hg IV | 0,03 | 14,0 |
| Hg V | 2,9 | 5,9 |
| Hg VI | 0,22 | 0,37 |
| Hg VII | 22,1 | 21,3 |
| Hg VIII | 7,3 | 11,5 |

*) Dichter Rasen von Keimmyzel, absolute Keimzahl nicht festzustellen.

### b) Bodenfeuchtigkeit

Über den Einfluß der Bodenfeuchtigkeit auf die Wirkung der zur Zeit im Handel befindlichen Beizmittel sind keine eingehenden Untersuchungen bekanntgeworden. Nach Gassner (1952), sowie nach den Erfahrungen, die bei der amtlichen Mittelprüfung gesammelt werden konnten, können Trockenbeizmittel auch dann voll wirksam sein, wenn in den auf die Aussaat folgenden Tagen größere Niederschläge fallen. Die Beizwirkung muß also, wie schon Supper (1932) nachgewiesen hat, innerhalb von wenigen Stunden nach der Aussaat eintreten. Gleichzeitig konnte aber Supper die stark absorbierende Wirkung der feuchten Erde zeigen, wenngleich man nach seinen Versuchen auf Grund verschiedener Bodenfeuchtigkeit nicht mit größeren Schwankungen im Beizerfolg zu rechnen braucht.

Janke, Beran und Schmidt (1953) konnten durch Hg-Verbindungen hervorgerufene Keimhemmungen an Steinbrandsporen mit Verbindungen, die SH-Gruppen besitzen, ausschalten oder rückgängig machen. Die Reversibilität einer Keimschädigung gelang bei den einzelnen Hg-Verbindungen in unterschiedlichem abfallenden Grad bis etwa 24 Stunden nach dem Beginn der Hg-Einwirkung. Also auch diese Versuche sprechen für eine rasch einsetzende, irreversible Wirkungsweise. Demnach muß der während der Aussaat herrschende Feuchtigkeitszustand des Bodens seinen Einfluß gegenüber nachfolgenden Niederschlägen verstärkt geltend machen. Diese Annahme wird durch den in Tabelle 7 zusammengestellten Versuch gestützt. Hier wurden wiederum nach der Gassnerschen Methode infizierte und gebeizte Körner in geschlämmten Boden (Petrischalendurchmesser 13 cm) gesteckt. Die Oberfläche der Lehmaufschlämmung in den als „trocken" bezeichneten Schalen war beim Einstecken der Körner soweit abgetrocknet, daß der Lehm sich kneten ließ, ohne an den Fingern haften zu bleiben. Die Oberfläche der

*Tabelle 7*

Beizwirkung in Abhängigkeit von der Bodenfeuchtigkeit

| Trocken-beizmittel | Aufwand-menge je dz Weizen | Zahl der unters. Sporen-populationen | Ges.-Zahl der Korn-abdrücke | durchschnittlich je Korn-abdruck gekeimte Sporen | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | „trockene" Schalen | „feuchte" Schalen |
| Unbehandelt | | 53 | 530 | 5* | 3—4* |
| Hg I | 200 g | 10 | 160 | 1,9 | 10,5 |
| Hg II | 150 g | 6 | 96 | 0 | 2,2 |
| Hg III | 150 g | 7 | 112 | 1,4 | 7,0 |
| Hg IV | 150 g | 6 | 96 | 1,5 | 22,5 |
| Hg V | 100 g | 12 | 120 | 0,08 | 11,3 |
| Hg VII | 100 g | 12 | 120 | 14,7 | 34,6 |

*) Es bedeutet bei Unbehandelt 0 = keine Keimung, 5 = volle Keimung (absolute Zahl nicht zu erfassen).

„feuchten" Schalen dagegen war noch glänzend und klebrig. Die trockenen und feuchten Schalen sind jeweils mit der gleichen Anzahl Körner der Weizensorte Mauerner begrannter Dickkopf, die einheitlich mit 0,5 % Sporen infiziert und danach gebeizt worden waren, beschickt worden. Die Körner wurden sechs Tage nach Versuchsbeginn entfernt; nach insgesamt acht Tagen wurde die Anzahl der gekeimten Sporen je Kornabdruck gezählt. Die Versuchstemperatur betrug 10 ° C. Die Keimung der Sporen in den ungebeizten Kornabdrücken war an einem weißen Myzelüberzug makroskopisch zu erkennen, der in den feuchten Schalen stets schwächer als in den trockenen Schalen war, in denen der Wassergehalt für die Keimung optimale Bedingungen bot. Ganz entgegengesetzte Keimzahlen wurden in den gebeizten Reihen der trockenen und feuchten Schalen gezählt. Demnach ist die größere Zahl der Sporenkeimung in den feuchten Schalen nach der Saatgutbeizung offenbar dem höheren Wassergehalt des Bodens und einem dadurch herabgesetzten Beizeffekt zuzuschreiben.

## IV. Besprechung der Versuchsbefunde

Nach den zuvor berichteten Beobachtungen kann eine erschöpfende Erklärung für die unter praktischen Verhältnissen beobachteten Beizfehlschläge noch nicht gegeben werden. An Hand von langjährigen Ergebnissen der amtlichen Mittelprüfung gegen Weizensteinbrand, die an mehreren Versuchsstellen in Deutschland durchgeführt wird, läßt sich feststellen, daß sich die einzelnen Einflüsse, wie Sporenherkunft, Bodentemperatur und Bodenfeuchtigkeit im Befallsbild nicht immer klar durchsetzen. Es muß offenbar zu einer geeigneten gegenseitigen Abstufung der einzelnen Faktoren kommen, wenn größere Mißerfolge bei der Bekämpfung zustande kommen. Welche der genannten Ursachen dabei vorwiegend ausschlaggebend sind, kann noch nicht endgültig gesagt werden. Voraussetzung ist wahrscheinlich eine niedrige Durchschnitts-

temperatur, die nach den Mittelprüfungsergebnissen und den dabei vorgenommenen Temperaturaufzeichnungen in den ersten Wochen nach der Aussaat meist zwischen 0 und 10 ° C liegt. Die Weizensorten mögen sich dabei unterschiedlich verhalten, wie es ja auch auf Grund der Feststellungen von Faris (1924), Smith (1932) und Voss (1937) keine optimale Infektionstemperatur gibt, die für alle Steinbrandrassen und alle Wirtssorten gleichermaßen gilt; jede Weizensorte spricht vielleicht mit einer bestimmten Brandrasse eigengesetzlich auf die Temperatur an (Gäumann 1951). Deshalb wird eine allgemeingültige, enge Temperaturspanne, in der die Krankheit am stärksten auftritt, vielleicht nicht angegeben werden können.

Ohne Berücksichtigung der Temperatur hat Pichler (1951) schon gezeigt, daß bei anfälligeren Weizensorten der Erfolg einer Saatgutbeizung viel geringer als bei einer widerstandsfähigen Sorte ist. Besonders befallsgefährdet wären demnach im Zusammenhang mit unseren Beobachtungen diejenigen Weizensorten, deren Infektionsoptimum bei besonders niedrigen Temperaturen liegt.

Von den übrigen Einwirkungen spielt sicherlich die geeignete Erregerrasse eine Rolle, wobei ein höherer Befall nicht nur infolge einer größeren Widerstandsfähigkeit gegen die Bekämpfungsmittel, sondern auch durch ein noch nicht untersuchtes, höheres Infektionsvermögen bei sehr niedrigen Temperaturen oder höherer Bodenfeuchtigkeit zustande kommen könnte. Nach den Laboratoriumsversuchen ist außerdem unverkennbar, daß eine höhere Bodenfeuchtigkeit auf den Bekämpfungserfolg drückt.

Zur Beurteilung von Freilandversuchen muß man berücksichtigen, wie eng die Bereiche innerhalb der Temperaturskala, den Graden an Bodenfeuchtigkeit in Abhängigkeit von der Bodenart abgegrenzt sind, in denen alle Einflüsse ihre ungünstige Wirkung auf die Bekämpfungsmaßnahmen voll ausüben können. Das Befallsoptimum liegt für den Weizensteinbrand je nach der Weizensorte bei 5 bis 10 ° C, also direkt neben dem Maximum von 2 bis 3 ° C (Gäumann 1951). Mit abnehmender Temperatur sinkt die Wirksamkeit der Beizmittel, und sie dürfte an der Grenze der minimalen Befallstemperatur überhaupt ihren tiefsten Stand erreicht haben, wenn man unter Wirksamkeit die prozentuale Befallsverhütung gegenüber dem Brandanteil bei „unbehandelt" versteht. Ähnlich liegen die Dinge bei der Bodenfeuchtigkeit. Bei ihrer Erhöhung über die optimalen Bedingungen für die Sporenkeimung verlieren die Beizmittel an Wirksamkeit, und gleichzeitig verschlechtern sich die Voraussetzungen für die Brandsporenkeimung.

Aus diesen Beziehungen läßt sich der unbefriedigende Beizerfolg auch dort erklären, wo in den unbehandelten Kontrollparzellen oftmals nur wenige Prozent kranker Pflanzen gefunden werden. Der Steinbrandbefall und damit die augenscheinliche Wirkung der Beizmittel sind in diesen Grenzbereichen wahrscheinlich sehr labil und die vorausgegangenen Versuche reichen nicht, eine genaue Analyse dieser Vorgänge zu geben.

Zur Erreichung des gesteckten Zieles bedarf es noch einer Vervollständigung und Erweiterung der Versuche. Aus fast allen Versuchen hat sich eine

mehr oder weniger unterschiedliche Wirkungsweise der einzelnen Mittel ergeben. Unter Einbeziehung weiterer, auch Hg-freier Beizmittel in die Untersuchungen wird vielleicht bei der praktischen Bekämpfung, durch eine geeignete Auswahl der Mittel, den ungünstigen Einflüssen zu begegnen sein.

Noch nicht ausreichend geklärt ist der Einfluß der Bodenart. GASSNER (1925) erzielte bedeutend bessere Beizeffekte auf Sand- als auf Lehmboden. Die Angabe von RAPIN (1927), daß Beizmittel im Humusboden sehr schlecht, in Tonboden gut wirkten, kann nach ZILLIG (1932) auch aus der Beeinflussung der Sporenkeimung durch die genannten Bodenarten erklärt werden. VOLKS (1929) Ergebnisse stimmen mit GASSNER (1925) und RAPIN (1927) nicht überein. Das mag daran liegen, daß sich Versuche dieser Art schwer reproduzieren lassen, weil eine Charakterisierung des Versuchsobjektes „Boden" nicht ausreichend genau vorzunehmen ist. Darüber hinaus kann eine Reihe anderer Einflüsse das Ergebnis verschleiern. So trat auch nach Beobachtungen von RODENHISER und TAYLOR (1940) der unterschiedliche Brandbefall ohne Beizung bei verschiedenen Lehmböden nur bei 5 ° C deutlich auf, nicht aber bei 10 und 15 ° C. Spezialisierte Versuche in dieser Richtung mit neueren organischen Hg-Verbindungen als Beizmittel stehen noch aus.

Neuerdings ist die Meinung verbreitet, die auch ZOBRIST und THIOLLIÈRE (1954) vertreten, daß das Nachlassen der Beizwirkung auf einer Verseuchung des Bodens mit Brandsporen beruht. Wenn dies der Fall ist, abgesehen von einigen Sonderfällen, wo eine Verseuchung kurze Zeit vor der Aussaat erfolgt, dann müßten neue Rassen des Normalbrandes auftreten, die, ähnlich dem Zwergbrand, eine mindestens zweijährige Lebensdauer im Boden besitzen. Die bisher in zahlreichen Versuchen beobachteten *Tilletia tritici*-Herkünfte (APPEL und RIEHM [1914], WOOLMAN und HUMPHREY [1924], BONNE [1931], HANNA und POPP [1933] und WINKELMANN [1935]) zeigten diese Eigenschaft nicht, sondern hatten im Boden meist schon nach wenigen Wochen ihr Infektionsvermögen eingebüßt. Daher fehlt für die Annahme, daß Beizmittel infolge von Bodeninfektion versagen, noch der Beweis.

Als vorläufige Nutzanwendung der vorliegenden Ergebnisse können zur Verhinderung größerer Ausfälle durch *Tilletia tritici* nach einer Beizung die folgenden Maßnahmen vorgeschlagen werden: Durch eine geeignete Vorbereitung des Saatbettes und nicht zu späte Aussaat im Herbst muß für ein rasches Auflaufen des Weizens gesorgt werden (SPRAGUE [1939]). Das „Einschmieren" des Saatgutes in feuchte Böden, das vom Weizen noch vertragen wird, kann sich auf die Wirkung der Beizmittel ungünstig auswirken und ist daher zu vermeiden. Die Beizmittel sollten erforderlichenfalls gewechselt werden, damit eine Auslese widerstandsfähiger Brandrassen erschwert wird.

## Zusammenfassung

Die Untersuchungen dienten zur Aufklärung von Fehlschlägen, die in den vergangenen Jahren bei der Bekämpfung des Weizensteinbrandes aufgetreten sind. In Feld- und verschiedenen Laboratoriumsversuchen wurde eine

unterschiedliche Widerstandsfähigkeit der Brandpopulationen gegen Hg-haltige Beizmittel nachgewiesen, wobei im Feldversuch Differenzen im Brandbefall von 0—5,2 % festzustellen waren.

Verschiedene Zwergbrandherkünfte waren in einem Laboratoriumsversuch gegen ein Hg-haltiges Naßbeizmittel in gleichem Maße empfindlich wie die *Tilletia tritici*-Herkünfte.

Zwischen der Keimungsgeschwindigkeit der *Tilletia tritici*-Herkünfte und dem durch sie verursachten Befall in gebeizten Parzellen besteht keine einheitliche Beziehung.

Das unterschiedliche Verhalten der Brandrassen gegenüber Beizmitteln reicht aber nicht aus, Bekämpfungsmißerfolge ausreichend zu erklären. Es muß offenbar zu einem geeigneten Zusammenwirken von mehreren Einflüssen kommen, die für die Beizung ungünstig sind. Zu solchen gehört nach den vorläufigen Beobachtungen für die ersten Wochen nach der Aussaat eine Bodentemperatur um etwa 5 ° C.

Eine hohe Bodenfeuchtigkeit, die für die Sporenkeimung als suboptimal angesehen wird, verminderte den Beizeffekt im Laboratoriumsversuch auffallend.

Andere Einflüsse, wie Bodenart, Weizensorte, Brandrasse und deren gesetzliche Abhängigkeit von Temperatur und Feuchtigkeit sowie die Möglichkeit des Auftretens von neuen *Tilletia tritici*-Rassen, die eine Bodeninfektion verursachen können, werden diskutiert. Sie erfordern weitere Untersuchungen.

Zur Verminderung von größeren Ausfällen bei Winterweizen wird vorgeschlagen, nicht zu spät auszusäen, für ein rasches Auflaufen Sorge zu tragen und die Beizmittel erforderlichenfalls zu wechseln.

## Literaturverzeichnis


1. Appel, O. und Riehm, E., 1914: Zur Frage der Überwinterung des Steinbrandes im Boden. Mitt. d. Biol. Reichsanstalt **15**, 6.
2. Bliss, C. I., 1935: The Calculation of the Dosage-Mortality Curve. Ann. Appl. Biol. **22**, 134—167.
3. Böning, K., Wagner, F. und v. Minckwitz, 1953: Untersuchungen zur Keimungsbiologie und Beizung der Sporen des Zwergsteinbrandes an Weizen. Z. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz **4**, 49—71.
4. Bonne, C., 1931: Untersuchungen über den Steinbrand des Weizens. Angew. Bot. **13**, 169—209.
5. Faris, J. A., 1924: Factors influencing the infection of wheat by *Tilletia tritici* and *Tilletia levis*. Mycologia **16**, 259—282.
6. Gassner, G., 1925: Über die Abhängigkeit des Steinbrandauftretens von der Bodenbeschaffenheit. Angew. Bot. **7**, 80.
7. — —, 1938: Untersuchungen über Keimgeschwindigkeit und Infektionsvermögen verschiedener Stämme von *Tilletia foetens* und *Tilletia tritici*. Phytopath. Z. **11**, 489—516.
8. — —, 1943: Zur Methodik der laboratoriumsmäßigen Prüfung von Beizmitteln. Phytopath. Z. **14**, 303—309.
9. — —: Beizung und Entseuchung von Saat- und Pflanzgut. In Sorauer, Handbuch d. Pflanzenkrankh., Bd. **6**, Pflanzenschutz, 234—273.

10. Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Basel 1951.
11. Hanna, W. F. and Popp, E., 1933: The overwintering of bunt spores in Western Canada. Scient. Agric. XIII, 10 (1933), 636—637. Ref. Rev. Appl. Mycol. **12**, 751.
12. Janke, A., Beran und Schmidt, 1953: Über die Einwirkung von Schwermetallsalzen auf Pilze. Pflanzenschutzberichte Wien **10**, 65—87.
13. Ken Knight, G., 1941: Studies on soil Actinomycetes in relation to potato scab and its control. Techn. Bull. Mich. Agric. Exp. Sta. **178**. Ref. Rev. Appl. Mycol. **22** (1943), 366.
14. Kirchner, H. A., 1953: Die Bedeutung der Nachbehandlung gebeizten Getreides für das Auftreten des Steinbrandes. Nachrichtenbl. f. d. Dtsch. Pflanzenschutzd. (Berlin) NF. 7 (33), 155—156.
15. Koller, S., 1953: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Darmstadt.
16. Krause, A., 1932: Über Weizenbrand und Weizensorten. Wiener Landw. Zeitg. **82**, 258—259. Ref. Rev. Appl. Mycol. **12** (1933), 17.
17. Pichler, F., 1951: Über die Anfälligkeit der österreichischen Weizensorten für Weizensteinbrand (*Tilletia tritici*). Bodenkultur (Wien) **5**, 61—66.
18. Rademacher, B., 1951: Gegen den Weizensteinbrand. Umschau **51**, 602.
19. Rapin, J., 1927: Action de la température et du sol sur le développement du *tilletia tritici* (carie du Blé). Ann. agric. de la Suisse **28**, 79—84. Ref. Rev. appl. Mycol. **6** (1927), 472.
20. Rodenhiser, H. A. and Taylor, J. W., 1940: Effects of soil type, soil sterilization and soil reaction on bunt infection at different incubation temperatures. Phytopathology **30**, 400—408.
21. Smith, W. K., 1932: The effect of different temperatures on the reaction of hope wheat to bunt. Phytopathol. **22**, 615—627.
22. Sprague, R., 1939: Controlling seed-borne stinking smut of Wheat by disinfectans. Bull. Ore. agric. Exp. Sta. 363. Ref. Rev. appl. Mycol. **19** (1940), 80.
23. Supper, R., 1932: Über die Wirkung von Trockenbeizen. Inaug. Diss. Hohenheim.
24. Thomas, W. D., 1947: Growth and Variation of six physiologic races of *Actinomyces scabies* on different culture media. Phytopathology **37**, 319—331.
25. Volk, A., 1929: Trockenbeizwirkung in Abhängigkeit von Bodenreaktion und Bodenart. Landw. Jahrb. **70**, 583—592.
26. Voss, J., 1937: Zur Methodik der Prüfung von Weizensorten auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen Steinbrand ( *Tilletia tritici*). Pflanzenbau **14**, 113—152.
27. Winkelmann, A., 1935: Warum tritt der Weizensteinbrand trotz Beizung stärker auf. Pflanzenbau **12**, 149—156.
28. Woolman, H. M. and Humphrey, H. B., 1924: Studies in the physiology and control of bunt or stinking smut of wheat. US. Dept. of Agr. Bul. Nr. 1239, Washington.
29. Zillig, H., 1932: Ustilaginales (Brandpilze). In Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankh. III. Bd., 2. Teil, 5. Aufl., Berlin.
30. Zobrist, L. und Thiollière, J., 1954: Neue Mittel zur Bekämpfung der Korn- und Bodeninfektion des Weizensteinbrandes. Phytopath. Z. **21**, 311—322.

*Aus dem Institut für allgemeine Botanik der Universität Zürich*

# Über die Wirkung von Insektiziden auf die Mitose von Pflanzen

Von

Alfred Bruhin und Hans Wanner

*Mit 17 Abbildungen und 4 Darstellungen*

Durch die Entdeckung systemisch wirkender Insektizide, d. h. solchen, welche auf Grund ihrer hohen Permeabilität in die Pflanze eindringen und von hier aus von den saugenden Schädlingen aufgenommen werden, haben sich der praktischen Insektenbekämpfung neue, aussichtsreiche Wege geöffnet. Die Absorption solcher Substanzen und deren Verbreitung im Pflanzenkörper bewirken, daß auch solche Schädlinge erfaßt werden, welche einer direkten Bekämpfung entgehen würden. Zu den schon bisher beachteten Fragen über die Giftigkeit solcher Substanzen für andere tierische Lebewesen als die zu bekämpfenden stellt sich aber hier auch das Problem: Wie verhalten sich die Pflanzen selbst gegenüber einer Zufuhr von Insektiziden, die in die Gewebe eindringen? Jedes neue Insektizid muß unbedingt auch in dieser Hinsicht geprüft werden. Neben der Beobachtung unmittelbar und direkt nachzuweisender Wirkungen darf die Möglichkeit von Nachwirkungen einmaliger oder wiederholter Behandlungen nicht vernachlässigt werden. Solche Nachwirkungen wären z. B. dann möglich, wenn die in Frage kommende Substanz mutagen wäre. Unmittelbar sichtbare Schäden brauchten dabei nicht zu entstehen. Solche Wirkungen könnten sich z. B. in einer Verminderung der Fertilität äußern oder aber dann erst in den nachfolgenden Generationen sichtbar werden. Wir haben es uns zur Aufgabe gemacht, an zwei systemisch wirkenden Insektiziden dieser Frage nachzugehen.

Dimetan wird von Wiesmann, Gasser & Grob (1951) als ein neues selektives und systemisch wirkendes Aphizid beschrieben. Es handelt sich bei dieser Substanz um ein Urethan, dessen Eigenschaften und Wirkungen vor allem in bezug auf seine Verwendung als Insektizid eingehend behandelt werden. Später hat Gasser (1952) über orientierende Versuche an Pflanzen mit dieser Substanz berichtet. Die Anwesenheit von Dimetan in pflanzlichen Zellen und Geweben soll das Wachstum, die Plasmabewegung, die osmotischen Zustandsgrößen, die Atmung und die Transpiration nicht verändern. Einzig bei der alkoholischen Gärung der Hefen und bei der Kohlenstoffassimilation grüner Pflanzen soll eine reversible Hemmung beobachtet worden sein. Dieses

letzte Ergebnis überrascht nicht, da Urethane schon seit längerem als starke Assimilationsgifte bekannt sind. Wie GASSER ferner feststellte, wird das Dimetan in den Leitungsbahnen der Pflanzen rasch verbreitet. So wird es bei der Zufuhr zu den Wurzeln von diesen absorbiert und gelangt im Assimilationsstrom in den Sproß, wo es wieder rückwärts im Phloem nach unten wandern kann. In dieser Beziehung stimmt es überein mit den ebenfalls systematisch wirkenden Phosphorsäureestern (Parathion, Ompa).

Einfache Urethane sind nun aber auch bekannt als Mitosegifte (HOHL, 1949). Infolge seiner ausgezeichneten Wanderungsfähigkeit im Pflanzenkörper ist zu erwarten, daß das Dimetan sich auch bei oberflächlicher Anwendung in den Meristemen der Pflanzen anhäuft, wie das z. B. von WEDDING und METCALF (1952) für Oktamethylpyrophosphoramid (Ompa) nachgewiesen wurde. Hat das Dimetan wie andere Urethane eine Mitosegift-Wirkung, so würde das in den Meristemen zu Entwicklungsstörungen und im generativen Bereich (Blütenknospen!) zu genetischen Veränderungen der Nachkommenschaft führen.

In dieser Arbeit soll zunächst über zytologische Beobachtungen berichtet werden, die bei der Zufuhr von Dimetan zu pflanzlichen Bildungsgeweben gemacht wurden. Daneben wurden noch orientierende Untersuchungen in der gleichen Richtung mit einem anderen Urethan, Pyrolan, durchgeführt, welches sich ebenfalls als selektives Aphizid mit ähnlichen physiologischen Eigenschaften wie das Dimetan erwies. Im Zusammenhang mit diesen zytologischen Untersuchungen wurden auch noch makroskopische Beobachtungen gemacht. Über diese soll zunächst zusammenfassend berichtet werden.

### 1. Sichtbare Veränderungen an Pflanzen nach Behandlung mit Dimetan

#### a) *Crepis tectorum*

Pflanzen von *Crepis tectorum,* deren junge Sprosse vollständig mit Blattläusen besetzt waren (nicht näher bestimmte Art), wurden mit 0,02 % und 0,04 % wäßriger Lösung von Dimetan ohne weiteren Zusatz, die Kontrollen mit dest. Wasser bespritzt. Zwei Stunden nach der Behandlung waren alle Pflanzen frei von Blattläusen, an den Kontrollen blieben sie unverändert. Am vierten Tage nach einmaliger Spritzung zeigten ganz junge, 2 bis 4 mm lange Blättchen der Blütenstandsschäfte leichtere Welkeerscheinungen, die aber nur vorübergehender Natur waren. Am achten Tage wurden die Ränder dieser nur noch schwach wachsenden Blätter leicht grau bis schwärzlich, diese Stellen verdorrten nachträglich.

Einer anderen Gruppe von blattlausbefallenen Pflanzen wurde das Dimetan durch Begießen der Erde über die Wurzeln zugeführt. Es wurde eine 0,04%ige Lösung verwendet. Alle Pflanzen waren bereits nach 52 Stunden vollkommen blattlausfrei. Es bestätigt somit die schon von GASSER gemachte Beobachtung, daß diese Substanz durch die Wurzeln aufgenommen und im Sproß verteilt werden kann. Bei einmaliger Zufuhr von Dimetan waren anfänglich die gleichen Störungen zu beobachten wie bei den Spritzversuchen. Wurden die Pflanzen zweimal mit je 50 ml Lösung in einem Abstand von

24 Stunden begossen, konnten bereits nach zehn Tagen, bei viermaliger Anwendung schon am siebenten Tage die ersten Welkeerscheinungen erkannt werden. Nach 20 Tagen waren bei allen Pflanzen die apikalen Vegetationspunkte abgestorben, der Sproß total erschlafft.

Weitere Beobachtungen zeigten, daß das Dimetan auch eine verstärkte Zellstreckung auslöst. Bei allen Behandlungsarten wuchsen nämlich anfänglich die obersten Achselknospen stärker als bei den Kontrollen. Die entstandenen kurzen Seitensprosse blieben aber schwächlich. In den rasch sich streckenden Abschnitten konnten im Gegensatz zu denen der Kontrollen mit Karminessigsäure-Quetschpräparaten keine Mitosen mehr beobachtet werden. Die Zellen der Internodien waren bedeutend länger als die der Kontrollpflanzen, d. h. es fand ein verstärktes Streckungswachstum statt. Die jungen Blütenkörbchen öffneten sich meistens frühzeitig und abnormal durch Querrisse. Die Blüten blieben häufig verklebt und verdorrten.

Die hohlen Blütenstandsstengel von *Crepis tectorum* eignen sich auch gut zu Injektionsversuchen. Unterhalb der Sproßspitze wurde mit einer Injektionsnadel eine kleine Öffnung für den Luftaustritt angebracht. Die Lösung wurde oberhalb der grundständigen Blätter mit einer feinen Tuberculinspritze injiziert. Es können gut 0,5 bis 1 ml Lösung auf diese Art zugeführt werden. Die injizierte Flüssigkeitsmenge nimmt in wenigen Stunden stark ab. Die Lösung wird offenbar von den umliegenden Geweben resorbiert. Es konnten dabei Unterschiede in der Aufnahmegeschwindigkeit beobachtet werden. Trocken gehaltene Pflanzen nehmen die eingeführte Flüssigkeit rascher auf als solche, die eine gute Wasserversorgung hatten. Betrug die Konzentration der zugeführten Dimetanlösung 1 %, so zeigten sich bereits nach zwei Tagen starke pathologische Veränderungen an den Pflanzen. Die ausgewachsenen Laubblätter der grundständigen Blattrosette, aber auch die stengelständigen Blätter zeigten olivgrün sich ausfärbende Stellen. Die Blätter wurden schlaff und legten sich auf den Boden. Am dritten Tage waren schon große Partien grauschwarz, nach vier Tagen verdorrten sie vollständig. Die Achselknospen und jungen Blütenstände der oberen Partien des Sprosses platzten und verdorrten. Die obersten Sproßpartien, in denen die Festigungsgewebe noch schwach ausgebildet waren, verloren ihre normale Turgeszenz, sie sanken zusammen. Auch bei Verwendung von niedrigen Konzentrationen (0,01 bis 0,04 %) erhielten wir ähnliche, jedoch nicht so stark ausgeprägte Schädigungen. Bis zum Sichtbarwerden der ersten Störungen verflossen dann wie beim Begießen acht bis zehn Tage. Meristematische Gewebe der Seitenäste wiesen gleichartige Schädigungen auf wie der Hauptsproß. Das Dimetan gelangt offenbar auch bei Zufuhr durch Injektion rasch in sämtliche Teile der Pflanze.

### b) *Vicia Faba*

Die Wurzelspitzen der Keimpflanzen von *Vicia Faba* dienten zur Untersuchung der zytologischen Wirkungen von Dimetan. Es konnten im Zusammenhang mit diesen Untersuchungen charakteristische, makroskopisch sichtbare Änderungen an den behandelten Wurzelsystemen festgestellt werden.

Auch bei dieser Pflanze zeigte es sich, an Hand der makroskopisch sichtbaren Schädigungen, daß bei höheren Konzentrationen und kurzer Einwirkungszeit die gleichen Wirkungen beobachtet werden konnten wie bei Verwendung niedriger Konzentrationen und langer Behandlungszeit. Um die Versuchsdauer abzukürzen, wurden deshalb hier die Konzentrationen auf 0,5 %, 1 % und 2 % erhöht. Die Pflanzen wurden in Sägemehl zur Keimung gebracht. Sie wurden für Versuche verwendet, wenn die primären Seitenwurzeln eine Länge von 0,5 bis 2 cm erreicht hatten. Die Wurzelsysteme wurden vollständig in die wäßrige Dimetanlösung eingetaucht, die Kontrollen in destilliertes Wasser.

Wurden Wurzeln von *Vicia Faba* während sieben bis zehn Stunden in 0,5- bis 2 %igen Dimetanlösungen gehalten und nachträglich 14 Stunden in destilliertes Wasser gebracht, so waren sie irreversibel geschädigt. Die normal hellgelbe Farbe der Wurzelspitzen wandelte sich allmählich in ein Graublau um. Die Wurzeln zeigten leichte Quellungserscheinungen. Die Oberfläche wurde schleimig. Die Wurzeln verloren allmählich ihre Turgeszenz und starben langsam ab; 1 bis 2 mm lange, in Bildung begriffene Seitenwurzeln im obersten Teile der Hauptwurzeln erhielten blasenförmige Auftreibungen, wurden schneeweiß und starben ab.

Um die Wirkung länger dauernder Zufuhr von Dimetan zu untersuchen, wurden noch Versuche mit Pflanzen angesetzt, die in reinem Quarzsand standen. Die nach dem Ankeimen in Sägemehl in den Quarzsand verbrachten Pflanzen erhielten hier entweder Dimetan in einer Konzentration von 0,02 % und 0,04 % oder die Kontrollen nur destilliertes Wasser. Da die Kotyledonen dieser Pflanzen noch genügend Reservestoffe enthielten, bekamen sie keine Nährlösung. Die Untersuchung erfolgte nach drei, sechs, zehn und 14 Tagen. Dabei wurde der an den Wurzeln haftende Quarzsand mit destilliertem Wasser abgespült, die für die zytologische Untersuchung notwendigen Wurzelspitzen fixiert und weiterverarbeitet. Nach drei Tagen konnten bei den Wurzeln, die Dimetanlösung erhalten hatten, nur etwas stärkere Verkrümmungen festgestellt werden als bei den Kontrollen. Nach Ablauf von sechs Tagen waren diese Verkrümmungen sehr auffallend, und zwar bei beiden verwendeten Konzentrationen. Neu aus der Hauptwurzel ausgetretene Seitenwurzeln waren sehr stark angeschwollen. Sie wiesen einen deutlichen Hals, eine Einschnürungsstelle auf. Auch die Färbung der Wurzeln war nicht mehr normal; sie wiesen eine leicht graue bis gelbliche Farbe auf, die Spitzen waren hyaliner als normal.

Nach zehn Tagen starben die zuerst ausgebildeten Seitenwurzeln ab. Die Wurzelrinde wurde blauschwarz und löste sich vom länger intakt gebliebenen Zentralzylinder los. Die Wurzeln wurden schlaff. Am basalen Teile der Primärwurzel bildeten sich neue Seitenwurzeln, deren Wachstum aber enorm gehemmt war. Sie hatten ein geschwollenes Aussehen und zeigten lufthaltige, blasenartige Ringbildungen. Die aus Epi- und Hypokotyl austretenden Seitenwurzeln erschienen äußerlich normal. Die Nebenblätter der oberen Laubblätter wiesen stellenweise schwarze Ränder auf, ebenso die Ränder der

Fiederblätter. Die Epikotylrinde selbst wurde schwarz und trocknete bis auf die Leitbündel ein. (Abb. 1.)

Nach vierzehn Tagen boten die behandelten Pflanzen einen katastrophalen Anblick. Das Epikotyl war geknickt. Große schwarze angetrocknete Stellen auf allen Blättern wiesen auf die Wirkung der Substanz hin. Alle Wurzeln waren außerordentlich stark verkrümmt, mit zum Teil starken Anschwellungen. Äußerlich war zwischen den Pflanzen, die 0,02 %ige und 0,04%ige Lösung erhalten hatten, kein Unterschied festzustellen.

Abb. 1. *Vicia Faba.* Dauerversuch. Links behandelte Pflanze, rechts Kontrolle. Unter dem Einfluß einer Lösung von 0,02 und 0,04 % Dimetan nach 336 Stunden und mehr zeigt sich das charakteristische Bild der Wirkung des Stoffes. Die zuerst ausgebildeten Seitenwurzeln erscheinen graublau (B). Die in der Lösung sich neu bildenden Seitenwurzeln (C) sind aufgetrieben, weiß. Die aus dem Hypocotyl austretenden Adventivwurzeln erscheinen äußerlich normal (A). Die Pfeile deuten auf die schwarze, eintrocknende Hypocotylrinde

### 2. Zytologische Wirkungen an den Mitosen der Wurzelspitzen von *Vicia Faba*

a) Methoden

Die Spitzen der behandelten Wurzeln wurden kurz mit destilliertem Wasser abgespült, dann mit La Cour II BE fixiert. Normalerweise wird das Meristem beim Einlegen in osmiumsäurehaltige Fixiermittel schwarz, grau auslaufend gegen die Streckungszone. Mit zunehmender Einwirkung des Dimetans verschwindet aber diese Schwarzfärbung der Meristeme, was darauf hinweist, daß von den behandelten Zellen das Osmiumtetroxyd nicht mehr reduziert werden kann. Äußerlich stark veränderte Wurzelspitzen boten auch

der weiteren Verarbeitung große Schwierigkeiten. Die zytologische Untersuchung erfolgte an Feulgen-Quetschpräparaten. Lange Einwirkungszeit und hohe Konzentration von Dimetan schienen nun die Hydrolyse mit HCl irgendwie zu hemmen oder zu verhindern, so daß die Spitzen weder gefärbt noch quetschbar waren.

b) Beeinflussung der Mitoserate durch verschiedene Konzentrationen und verschiedene Behandlungsdauer

Zur Feststellung der Mitoserate und deren Verschiebung wurden pro Versuch vier Auszählungen von je fünf verschiedenen Pflanzen durchgeführt. In einer früheren Arbeit aus unserem Institut (HOHL, K. 1949) wurde zur Erfassung von Veränderungen der Zeitdauer der Mitose unter dem Einfluß von Chemikalien eine spezielle Methode, die Berechnung des „Mitoseablaufzeitquotienten" (MAQ), verwendet. Im vorliegenden Falle schien uns die Aufstellung und der Vergleich des MAQ nicht zu genügen. Dieser erfaßt nur eine zeitliche Verschiebung von der Prophase bis zur Metaphase, da er aus dem Verhältnis der frühen (FM) und späten (M) Metaphasen zu den vorhandenen Prophasen (P) ([FM + M] : P) berechnet wird. Verschiedene Substanzen können aber vor der Prophase oder nach der Metaphase in die Mitose eingreifen, oder es kann die Zahl der sich teilenden Zellen stark verändert werden, ohne daß dies durch den MAQ zum Ausdruck gebracht werden kann. Unabhängig von der Zellteilungsintensität wird so nur eine einzige Stadienverschiebung erfaßt. Dies kann zu einem falschen Bilde führen. In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb nicht nur die Mitosestadien ausgezählt,

*Tabelle 1*

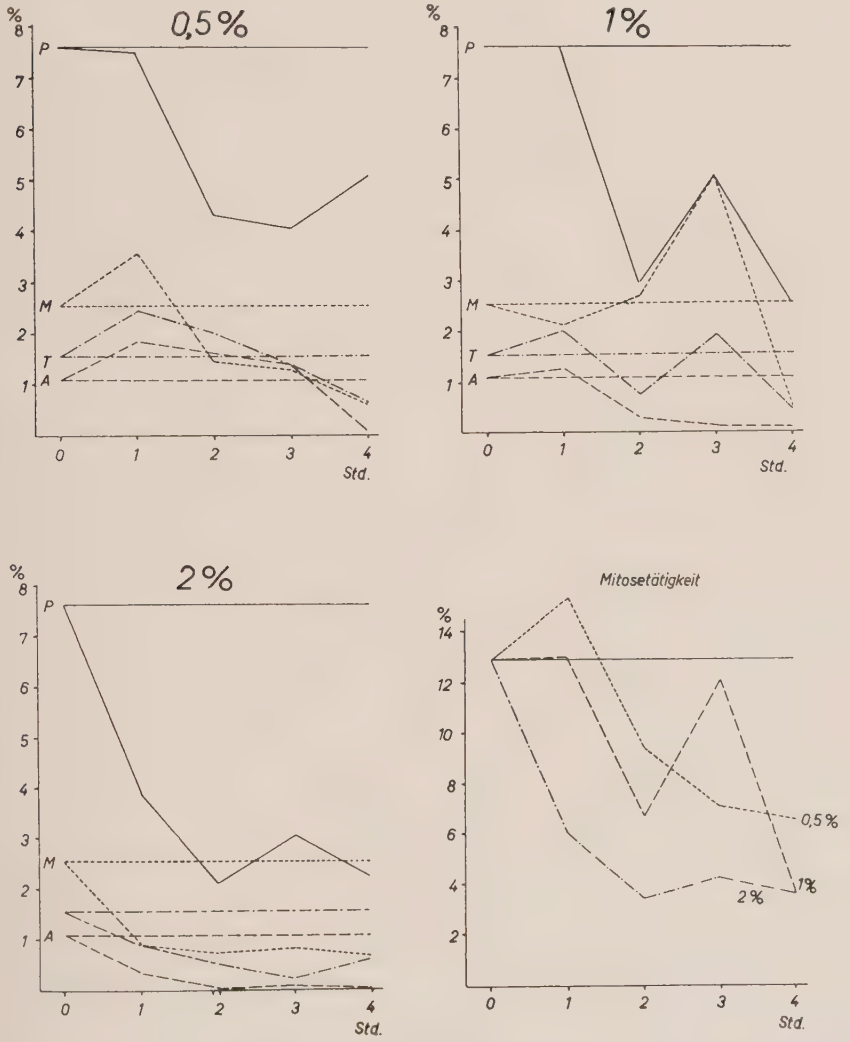
Anzahl der einzelnen Mitosestadien bezogen auf das Total der untersuchten Zellen in %

| Konzentration % | Einwirkungszeit Std. | Prophasen | Metaphasen | Anaphasen | Telophasen | Mitosen | Ruhekerne |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle..... | | 7,62 | 2,55 | 1,10 | 1,55 | 12,87 | 87,13 |
| 0,5 | 1 | 7,51 | 3,60 | 1,86 | 2,38 | 15,35 | 84,65 |
| | 2 | 4,34 | 1,45 | 1,60 | 2,01 | 9,40 | 90,60 |
| | 3 | 4,08 | 1,30 | 0,38 | 1,41 | 7,17 | 92,83 |
| | 4 | 5,10 | 0,72 | 0,08 | 0,66 | 6,56 | 93,44 |
| 1,0 | 1 | 7,58 | 2,13 | 1,27 | 2,02 | 13,00 | 87,00 |
| | 2 | 2,95 | 2,71 | 0,33 | 0,75 | 6,74 | 93,26 |
| | 3 | 5,06 | 5,04 | 0,13 | 1,90 | 12,13 | 87,87 |
| | 4 | 2,52 | 0,51 | 0,14 | 0,49 | 3,66 | 96,34 |
| 2,0 | 1 | 3,90 | 0,83 | 0,39 | 0,92 | 6,04 | 93,96 |
| | 2 | 2,15 | 0,76 | 0,06 | 0,55 | 3,52 | 96,48 |
| | 3 | 3,08 | 0,16 | 0,13 | 0,26 | 4,33 | 95,67 |
| | 4 | 2,25 | 0,71 | 0,05 | 0,65 | 3,66 | 96,34 |

sondern auch die Ruhekernstadien miteinbezogen. Die Prozentangaben beziehen sich hier nicht auf das Total der Mitoseanzahl, sondern auf die Gesamtheit der beobachteten Zellen überhaupt.

Die erhaltenen Werte sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Sie werden anschließend an Hand der sich daraus ergebenden Kurven diskutiert.

Wir betrachten vorderhand die Mitosetätigkeit ohne Berücksichtigung der Tatsache, daß Störungen der Zellteilungen auftreten.




Darstellungen 1—3. Wirkung von Lösungen verschiedener Konzentration auf die Mitose von *Vicia Faba*. Darstellung 4. Veränderung der gesamten Mitosetätigkeit unter dem Einfluß verschiedener Konzentrationen.

P = Prophasen, M = Metaphasen, A = Anaphasen, T = Telophasen. Horizontale Striche = entsprechende Werte der Kontrollen.

Konzentration 0,5 % (Darstellung 1, Tabelle 1): Nach einstündiger Behandlung zeigt es sich, daß die Anzahl der Prophasen praktisch gleichbleibt, während die Meta-, Ana- und Telophasen um ungefähr 1 % zunehmen. Dies bewirkt, daß die gesamte Mitosetätigkeit (Darstellung 4) von 12,87 % zu Beginn (gleich wie die Kontrolle) um fast 2,5 % auf 15,35 % ansteigt. Der Stoff scheint die Mitosetätigkeit zu fördern, doch besteht Grund zur Annahme, daß diese nur etwas verlangsamt wird und es so zur Anhäufung von Mitosestadien kommen kann. Nach zwei Stunden wird die Wirkung der Substanz bedeutend deutlicher. Die Anzahl der Prophasen sinkt fast auf die Hälfte, ebenso die der Metaphasen. Ana- und Telophasen sind noch etwas mehr als in der Kontrolle vorhanden. Es scheint, daß diese stärker gehemmt werden. Dreistündige Behandlung verändert das Bild nicht wesentlich. Erst nach vier Stunden sinken die Werte gegen Null ab. Eine Ausnahme bildet nur die Prophase, wo wir einen leichten Anstieg feststellen können. Aus den später zu besprechenden zytologischen Bildern geht hervor, daß mit Ausnahme der Prophasen alle Stadien Störungen aufweisen und oft verfrüht in Ruhekerne übergehen, zum Teil auch Restitutionskerne bilden. Wir dürfen annehmen, daß die Substanz die Prophasen oder Ruhekerne weniger stark angreift als die anderen Stadien. Daß die Pflanze in bezug auf ihre Mitosetätigkeit sich noch bei dieser Konzentration etwas erholen kann, zeigt der leichte Anstieg der Prophasen nach vierstündiger Behandlung.

Konzentration 1 % (Darstellung 2, Tabelle 1): Auch hier kann nach einstündiger Einwirkung kaum eine starke Veränderung festgestellt werden. Die Anzahl der Prophasen bleibt gleich, während etwas weniger Metaphasen gefunden werden können. Die Anzahl Ana- und Telophasen steigt leicht an. Die Wirkung kann mit der von 0,5 % verglichen werden. Nach zwei Stunden sinken die Werte für Prophasen auf weniger als die Hälfte der Kontrolle ab, während fast gleich viele Metaphasen wie zu Beginn des Versuchs festgestellt werden können. Ana- und Telophasen sind nur noch wenige zu erkennen. Nach drei Stunden steigen die Werte für Prophasen und Metaphasen wieder stark an. Sie erreichen 5 %. Es sind nun fast doppelt so viele Metaphasen vorhanden als in der Kontrolle, d. h. die Mitosen werden durch Spindelhemmung in der Metaphase abgestoppt, wodurch es zu einer Anhäufung kommt. Das Ansteigen der Prophaseanzahl (ähnlich wie bei 0,5 % und vier Stunden) zeigt, daß möglicherweise eine anfängliche Prophasehemmung überwunden werden kann. Telophasen sind ebenfalls mehr vorhanden als in der Kontrolle. Ein Teil der noch vorhandenen späten Metaphasen und der Anaphasen konnte noch in die Telophase übergehen. Wenn nun aber nach vierstündiger Einwirkung die Werte aller Stadien abfallen, so kann das nur mit Hilfe der zytologischen Bilder erklärt werden. Sehr viele Mitosestadien gehen direkt zur Ruhekernbildung über. Am häufigsten sind noch Prophasestadien zu erkennen.

Konzentration 2 % (Darstellung 3, Tabelle 1): Die Giftwirkung wird hier schon nach einstündiger Einwirkung ganz offensichtlich. Die Werte

für alle Stadien sinken stark ab. Die bei 1 % gemachte Feststellung eines nochmaligen Anstieges wiederholt sich auch hier, nur bedeutend schwächer. Doch können wir hier kaum mehr von normalen Mitosen sprechen. Allzu starke Giftwirkung hat alle Stadien bereits mehr oder weniger zu unkenntlichen Klumpen verformt. Wenn nach vier Stunden immer noch Mitosen festgestellt werden können, so nur deshalb, weil das Dimetan in dieser Konzentration die Zellen fixieren und abtöten kann.

Betrachten wir die gesamte Mitosetätigkeit, so stellen wir fest, daß einzig bei 0,5 % und einstündiger Einwirkung die Werte die der Kontrolle übersteigen. Bei 1 % erkennen wir einen deutlichen Anstieg drei Stunden nach Beginn des Versuchs. Die starke Giftwirkung des Dimetans in 2%iger Lösung wird im Vergleich mit der Kontrolle sehr deutlich (Darstellung 4).

### c) Chromosomenmutationen

Wie festgestellt wurde, wird durch das Dimetan die Mitosetätigkeit erheblich verändert, in bestimmten Fällen sogar ganz gestoppt. Parallel dazu treten auch charakteristische Veränderungen an den Chromosomen und in ihrer Anordnung auf.

Einwirkungsdauer eine Stunde: Niedere Konzentrationen von 0,5 % bewirken bei Dioxan, Aceton usw. nur, daß die Chromosomen in der Metaphase leicht verkürzt werden (Hohl 1949, Wanner und Bruhin 1949, Bruhin 1950). Bei Dimetaneinwirkung sind die Enden der langen Chromosomen in der Anaphase häufig verklebt, besonders deutlich zu sehen am Sat.-Chromosom, wo die beiden Satelliten seitlich oder endständig so stark aneinanderhaften, daß die Verbindung zu einem Tochterchromosom abgerissen wird. 2 % bewirken sehr starke Verklebungen der Methaphasechromosomen, und es treten Quellungserscheinungen auf sowie starke Brückenbildungen und Verklumpungen in der Anaphase. Ausgestoßene Chromosomen und Fragmente bleiben mehr oder weniger unverändert. (Cf. Abb. 2, 3, 6, 12.)

Einwirkungsdauer zwei Stunden: Bei 0,5 % tritt vermehrter Verlust der Satelliten auf. Dies ist in frühen wie in späten Anaphasen besonders deutlich zu erkennen, da das Sat.-Chromosom sehr lang ist und der Satellit am langen Arm aus dem Chromosomenbüschel herausragt. In der Telophase, auch bei nicht vollständigem Bruch der Satelliten, werden diese bei der Ruhekernbildung meistens nicht mehr miteinbezogen. Sie liegen dann außerhalb der sich neubildenden Kernmembran. Bei Behandlung mit 1%iger Lösung ist der Effekt ungefähr derselbe wie bei einstündiger Einwirkung. Es kann aber vermehrtes Auftreten von Verklebungen und somit von Brückenbildungen beobachtet werden. Die Einwirkung von 2 % zeitigt bereits katastrophale Auswirkungen. Kein einziges normales Mitosebild kann noch beobachtet werden. Alle Metaphasen zeigen starke Verklebungen parallel zu außerordentlichen Quellungserscheinungen (Abb. 4, 7, 8, 13).

Einwirkungsdauer drei Stunden: Die niederste Konzentrationsstufe bewirkt schon starke Veränderungen der Prophasen. Vorzeitiges Platzen der Kernmembran geht einher neben unregelmäßiger Verkürzung der Chromosomen. Eine regelmäßige Einordnung in die Äquatorialebene ist kaum mehr möglich. Es treten viele Fragmente auf, und ganze Chromosomen machen den Bewegungsablauf der Mitose nicht mehr mit. Auffällig ist die Wirkung von 1 %. Durch eine Hemmung der Anaphasebewegung ergibt sich

---

Abb. 2. 0,5 %, 1 Std. Metaphase, Chromosomen von normaler Länge, Einzelchromatid gebrochen (Pfeil).

Abb. 3. 0,5 %, 1 Std. Metaphase wie in Abb. 2, aber beide Chromatiden des Chromosoms gebrochen (Pfeil).

Abb. 4. 0,5 %, 2 Std. Anaphase, deutliche Verklebung der Satelliten.

Abb. 5. 0,5 %, 3 Std. Die Verklebung der Satelliten kann sich oft noch lösen, jedoch werden die Satelliten äußerst selten bei der Ruhekernbildung einbezogen, sie bleiben im Plasma liegen.

Abb. 6. 1 %, 1 Std. Einzelchromosomen, zum Teil Spalthälften (ganze Chromatiden) können sich nicht mehr in die Äquatorialebene einordnen.

Abb. 7. 1 %, 2 Std. Anaphase, unregelmäßige Verteilung der Chromosomen durch starke Verklebungen. Die entstandenen Brücken (oft in großer Zahl) werden meistens erst bei der Ruhekernbildung gelöst oder bleiben noch weiterhin bestehen.

Abb. 8. 1 %, 2 Std. Aufgelöste Brücke, liegengebliebenes Fragment oder ganzes Chromosom vermochte einen Restitutionskern zu bilden. Vermutlich sogar ein Sat.-Chromosom. Oberer Tochterkern und Restitutionskern mit Nukleolus, unterer ohne.

Abb. 9. 1 %, 3 Std. Metaphase mit stark verkürzten Chromosomen.

Abb. 10. 1 %, 3 Std. Die Kernmembran hat sich aufgelöst, die Chromosomen haben sich nach Einordnung in die Äquatorialebene geteilt. Die Tochterchromosomen liegen noch paarweise im Plasma. Die Spindel ist gestört, die Chromosomen bleiben liegen.

Abb. 11. 1 %, 3 Std. Restitutionskernbildung aus Chromosomen, die sich bereits zu Beginn des Versuchs in der Metaphase befanden.

Abb. 12. 2 %, 1 Std. Unregelmäßige Verteilung und totale Verklebungen.

Abb. 13. 2 %, 2 Std. Unförmige Massen lassen nur noch zum Teil ehemalige Chromosomenstrukturen erkennen.

Abb. 14. 2 %, 3 Std. Total verklumpte „Metaphase".

Abb. 15. 2 %, 3 Std. Zerstörte Prophasen (P) und geschrumpfte Ruhekerne (R). In den Prophasen ist die Kernmembran teilweise gesprengt.

Abb. 16. 0,1 %, 1 Std. Metaphase, verkürzte Chromosomen.

Abb. 17. 0,1 %, 1 Std. Anaphase. Verteilung der Chromosomen, die meistens zum Tod der Zelle führt (tripolare Anaphase).

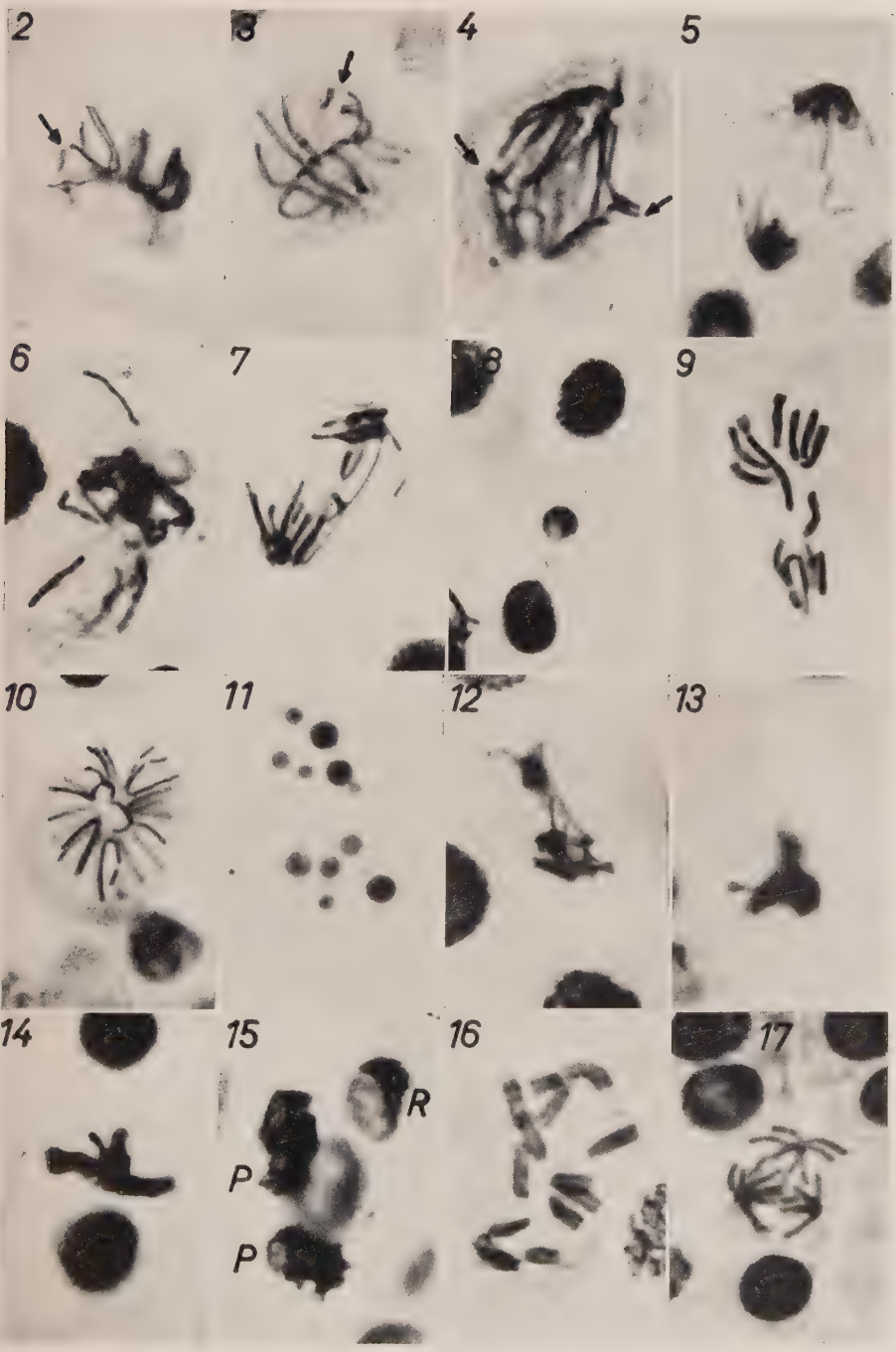



Abb. 2—15. Die Wirkung des Dimetans (Vergrößerungen Abb. 2—15 1200 ×)
Abb. 16 u. 17. Die Wirkung des Pyrolans
(Vergrößerungen Abb. 16 1425 ×, Abb. 17 875 ×)

eine starke Häufung von Metaphasestadien. Durch eine frühere Resorption der Kernmembran erhalten späte Prophasen den Aspekt von frühen Metaphasen. Die Chromosomen werden zum Teil unregelmäßig verkürzt, was den Eindruck einer Metaphase noch verstärkt. Die Chromosomen verlieren ihre Teilungsfähigkeit nicht. Sie fallen auseinander, können aber nicht mehr in die Anaphase eintreten. Dies führt zu einem fast gänzlichen Fehlen von Anaphasestadien. Vereinzelte zu beobachtende Anaphasen sind solche, die bereits zu Beginn der Einwirkung vorhanden waren und als total zerstörte Stadien erhalten blieben. Die Wirkung kann in dieser Hinsicht mit der c-Mitose (c = Colchicin) verglichen werden (LEVAN 1938, D'AMATO, F. 1950). Auch dort ist eine Anaphasebewegung der aus der Metaphase hervorgehenden Chromosomenhälften nicht mehr möglich, und es entstehen polyploide Zellen. Das Dimetan erzeugt aber neben der erwähnten Erscheinung noch häufig Brüche an Chromosomen, wirkt also noch zugleich mutagen. Dies kann nach Colchicineinwirkung nicht festgestellt werden. Nach Colchicineinwirkung kann wohl die Mitosetätigkeit gestoppt werden, doch ist eine Fixierungswirkung (Abtöten der Zellen) nicht beobachtet worden (D'AMATO, F. 1950).

Einwirkungsdauer vier Stunden: Bei längerer Einwirkung der genannten Konzentrationen können keine weiteren Veränderungen mehr festgestellt werden, die Wurzeln sind tot.

### 3. Vergleich zur C-Mitose

Nach A. LEVAN und nach dem Sammelreferat von D'AMATO l. c. ist der Effekt des Colchicins ganz spezifisch. Für das entsprechende Mitosebild wurde deshalb der Ausdruck der C-Mitose geschaffen. Die C-Mitose kann auf einen einzigen Moment bezogen werden, nämlich die Inaktivierung des Spindelapparates verbunden mit der vorübergehenden Unfähigkeit der Teilung des Centromers. Die Prophase verläuft meistens normal. Die Chromosomen teilen und verkürzen sich und erscheinen in ihrer Gesamtheit als Metaphase, ohne daß sie sich in die Äquatorialebene einordnen können. Erst längere Zeit nachher teilt sich das Centromer. Die Tochterchromosomen bleiben oft benachbart liegen und können in der gleichen Lage noch mehr Teilungen eingehen. Alle Chromosomen werden in einen Kern zusammengeschlossen. Die Spindel kann wieder reaktiviert werden, wenn das behandelte Gewebe wieder unter normale Bedingungen gebracht, d. h. der Colchicineinwirkung entzogen wird. Vor der Teilung des Centromers erscheinen die typischen c-Chomosomen, d. h. die Schenkel des Chromosoms scheinen geteilt, ausgestreckt nur noch an einer Stelle (am Centromer) zusammenzuhängen.

Die Dimetanbehandlung verursacht an den Chromosomen starke Verklebungen in der Meta- wie in der Anaphase. Wird die Spindeltätigkeit unterbunden, so teilen sich die Chromosomen bereits als noch lange, dünne Fäden, d. h. die Teilung des Centromers folgt unmittelbar auf die Teilung der Chro-

mosomen. Wird die Wirkung des Stoffes kurz nach der Teilung der Chromosomen aufgehoben, so daß noch nicht allzu starke Störungen auftreten konnten, dann können sich die betreffenden Zellen weiterteilen. Bleiben die Chromosomen aber länger unter der Wirkung des Stoffes im Plasma liegen, so erfolgt langsam eine Ruhekernbildung, und zwar so, daß einzelne, gerade zufällig beisammenliegende Chromosomen einen Teilkern bilden können. Dasselbe gilt für liegengebliebene Fragmente. Nur selten wird die Gesamtheit aller Chromosomen einer polyploiden Metaphase in einen einzigen Kern zusammengefaßt. In niederen Konzentrationen werden zudem oft Metaphasechromosomen stark verkürzt, ohne daß der Spindelapparat geschädigt wird. Die kurzen Chromosomen können in dieser Gestalt in die Anaphase übergehen, und die Mitose wird mit einer normalen Kern- und Zellteilung abgeschlossen.

### 4. Die Wirkung des Pyrolan

Etwas anders verhält sich das Pyrolan, das eine geringere Löslichkeit besitzt (Gassner, R. 1952). Das Mitosebild des Pyrolans könnte wenigstens in einer Beziehung mit der Wirkung des Penicillins bei *Allium* (Levan, A. und Tijo, J. H. 1951) verglichen werden. Es treten verschiedentlich Brücken und Fragmente auf, doch scheint das Pyrolan hauptsächlich die Polarität der Spindel zu stören. Den Prophasen und Metaphasen ist in den meisten Fällen kaum etwas anzusehen, was auf eine Wirkung des Stoffes schließen ließe. In der Anaphase treten aber häufig Stadien auf, wo das Chromosomenmaterial mehr oder weniger gleichmäßig auf drei Pole verteilt wird. In selteneren Fällen können sogar tetrapolare Anaphasen festgestellt werden. Diese Anomalien treten beim Pyrolan bereits nach Einwirkung von Konzentrationen von 0,05 bis 0,1 % auf, während solche nach Penicillinbehandlung erst bei höheren Konzentrationen festgestellt werden können (Abb. 16 und 17).

### 5. Freilandversuche und Fertilitätsbestimmungen

In Laboratoriumsversuchen wurde festgestellt, daß das Dimetan in die Pflanze eindringt. Wird eine Pflanze in der Erde mit der wäßrigen Lösung angegossen, wird die Substanz aufgenommen und im Pflanzeninnern verteilt, ebenso nach Injektion in den Stengel. Äußerlich können Schädigungen festgestellt werden, wie Eintrocknen und Verdorren von Blattrandpartien und Knospen. Es konnte gezeigt werden, daß das Dimetan Chromosomenmutationen bewirkt, falls es in genügender Konzentration oder über genügend lange Zeit angewendet wird.

Es erhebt sich nun die Frage, ob der Stoff, in sehr kleinen Dosen und großen Zeitabständen verabfolgt, die Pflanze zu schädigen vermag. Wenn Pflanzen geringe Mengen aufnehmen und auch nur lokal zu speichern ver-

mögen, so könnte sogar auch bei oberflächlichem Bespritzen Schaden entstehen. Wird die Substanz in Vegetationspunkten (Knospen) oder in Samen gespeichert, könnten mutagen bedingte Veränderungen beim Auswachsen der Knospen einerseits oder bei der Keimung der Samen andererseits zutage treten. Es wurden deshalb die folgenden Versuchsserien im Freien angesetzt:

Verwendet wurden Pflanzen von *Crepis tectorum*. Diese sind erst für Blattläuse anfällig, wenn die Blätter der grundständigen Rosette kurz vor dem schnellen Auswachsen der Sproßachse zum Blütenstandsstiel sich aufzurichten beginnen. In diesem Zustand wurde ein Teil der Pflanzen zum erstenmal mit einer 0,02 %igen Lösung bespritzt. Sie blieben bis kurz vor dem Aufblühen lausfrei. Kurz vor der Anthese mußten sie aber ein zweites Mal bespritzt werden. In einer zweiten Serie wurden Pflanzen mit einer 0,002 %igen Lösung begossen. Bis zur Samenreife konnten darauf keine Blattläuse mehr an den Pflanzen beobachtet werden.

Obwohl zum Teil vorübergehend Welkeerscheinungen auftraten und einige Blätter verdorrte Stellen aufwiesen, entwickelten sich alle Pflanzen weiter. Wenn nun durch Einwirkung des Dimetans einzelne Zellkomplexe oder in den Vegetationspunkten einzelne Zellen mutierten, so sollte dies entweder an der Mutterpflanze sichtbar werden oder vielleicht ihre Fertilität beeinträchtigen. Die behandelten Pflanzen wurden zum Teil geselbstet, zum Teil freier Bestäubung überlassen. Der Samenansatz war aber normal (Tabelle 2).

*Tabelle 2*

Samenansatz in Freilandversuchen

| Behandlung | Anzahl Pflanzen | Bestäubung | Kontrollierte Früchte | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | volle | | leere | |
| | | | Anzahl | % | Anzahl | % |
| Bespritzt | 20 | frei | 2 124 | 97,5 | 54 | 2,5 |
| | 20 | geselbstet | 2 890 | 96,9 | 91 | 3,1 |
| Begossen | 20 | frei | 3 211 | 98,0 | 66 | 2,0 |
| | 20 | geselbstet | 1 987 | 96,3 | 74 | 3,7 |
| Kontrolle | 20 | frei | 2 400 | 97,0 | 73 | 3,0 |

Je 100 der erhaltenen Achaenen wurden wiederum ausgesät. Anfänglich schienen bei den Keimpflanzen Unterschiede aufzutreten, die sich aber im Laufe der Entwicklung wieder ausglichen. Alle zur Blüte gelangten Pflanzen waren normal fertil. Es scheint also, daß auch wiederholt applizierte geringe Mengen Dimetan die unmittelbare Nachkommenschaft behandelter Pflanzen nicht

dauernd zu schädigen vermögen. Diese Feststellung scheint den Beobachtungen über die Häufigkeit der Induktion von Chromosomenschäden durch Dimetan-Behandlung zu widersprechen. Durch Mutationen geschädigte Zellen wachsen und teilen sich aber i. a. weniger schnell als normale, so daß das Verschwinden der Mutationen durch Selektion innerhalb der Zellverbände zustande kommen könnte. Um die für die Praxis wichtige Frage nach den Grenzen der Anwendbarkeit von mutagenen Insektiziden schlüssig beantworten zu können, müßten jedoch weitere Versuche dieser Art, am besten an Kulturpflanzen selbst vorgenommen werden.

## Zusammenfassung

Die Wirkung von Dimetan (5,5-Dimethyldihydroresorcindimethylcarbamat, ein Aphicid) und Pyrolan (1-Phenyl-3-methyl-pyrazolyl-(5)-dimethylcarbamat wird zytologisch gepüft, da es sich um Urethane handelt, von denen aus früheren Untersuchungen bekannt ist, daß sie strukturelle Veränderungen an Chromosomen bewirken.

Die Substanz wird durch die Blattoberfläche, wie auch durch die Wurzeln aufgenommen; sie wird im Saftstrom geleitet und gelangt mit ihm in alle Organe.

Nach Bespritzen, Begießen und nach Injektion von Lösungen (0,5 bis 2,0 %) treten äußerlich leicht feststellbare, irreversible Störungen auf. Auch kleine Dosen mit niederen Konzentrationen wirken in Wurzelmeristemen auf die Mitose ein. Verkürzung, Quellung und Verklebung und somit Brückenbildung und unregelmäßige Verteilung des Chromosomenmaterials in der Anaphase treten neben Fragmentation und Verlust ganzer Chromosomen auf. Satelliten werden oft als Fragmente festgestellt. Höhere Konzentrationen oder lange Einwirkungsdauer verunmöglichen jede Zellteilungstätigkeit.

In Freilandversuchen zeigte sich, daß bei Behandlung von Pflanzen mit starken Verdünnungen zum Teil vorübergehende Störungen auftreten können. In vorläufigen Versuchen konnten keine Fertilitätsbeeinflussungen oder Schädigungen der Nachkommenschaft beobachtet werden.

## Literaturverzeichnis

D'Amato, F., 1950: The Quantitative Study of Mitotic Poisons by the Allium Cepa Test: Data and Problems. Protoplasma, **39**, 423.

Bruhin, A., 1950: Beiträge zur Zytologie und Genetik schweizerischer Crepis-Arten III. Arb. a. d. Inst. f. allg. Bot. d. Univ. Zch, Serie B, Nr. 1.

Gasser, R., 1952: Über das Verhalten von selektiven Insektiziden mit Tiefenwirkung in der Pflanze. Ber. schw. bot. Ges., **62**, 66.

Hohl, K., 1949: Experimentelle Untersuchungen über Röntgeneffekte und chemische Effekte auf die pflanzliche Mitose. Thieme-Verlag, Stuttgart.

Levan, A., 1938: The Effect of Colchicin. Hereditas **24**, 471.

— — and Tijo, J. H., 1951: Penicillium in the Allium Test. Hereditas **37**, 306.

Wanner, H. und Bruhin, A., 1949: Beiträge zur Zytologie und Genetik schweizerischer Crepis-Arten II. Arch. d. Jul.-Klaus-Stiftg. **24**, 155.

Wedding, R. T. and Metcalf, R. L., 1952: Translocation of Radioactive Octamethyl-Pyrophosphoramide in Black Valentine Bean Plants. Bot. Gaz., **114**, 180.

Wiesmann, R., Gasser, R. und Grob, H., 1951: Über ein neuartiges selektives Aphicid mit Tiefenwirkung. Experientia, **7**, 117.

# Besprechungen

**Sorauer:** Handbuch der Pflanzenkrankheiten, V. Band, Tierische Schädlinge an Nutzpflanzen, 2. Teil, fünfte, neubearbeitete Auflage, 2. Lieferung: Coleoptera, herausgegeben von Prof. Dr. H. Blunck, 1954, Paul Parey in Berlin und Hamburg. 608 S. mit 157 Abb. DM 144,—*).

Mit dem Erscheinen der vorliegenden Lieferung des „Sorauers" ist die Vervollständigung dieses immer umfangreicher werdenden Handbuches weiter vorangekommen. Nehmen die Coleopteren in der 4. Auflage von 1932 „nur" rd. 270 Seiten ein, erweiterte sich in der vorliegenden Auflage „ihr Raum" um weit mehr als das Doppelte einschließlich des vollständigen Registers. Erfreulich ist das Auftauchen vieler neuer Bilder, wenn auch manches alte hätte vielleicht durch ein neues ersetzt werden können. In die Behandlung des sehr umfangreichen Stoffes teilen sich — mit stark unterschiedlichen Anteilen — 13 Bearbeiter (1932 : 5). Die Aufteilung des Stoffes erfolgte dabei nach der coleopterologischen Systematik. Erfreulich ist dabei zweierlei. Einmal enthält das Werk zum mindesten für Mitteleuropa eine wohl vollständige Aufzählung aller irgendwie „unliebsam" an Pflanzen aufgefallenen Käferarten, auch für andere Gebiete ist das Verzeichnis vervollständigt worden. Weiterhin ist es erfreulich, daß für die wirtschaftlich wichtigsten Gattungen in weitestem Umfange die bisher gebräuchlichen Gattungsnamen erhalten blieben. Zum Verständnis neueren oder ausländischen Schrifttums hätten allerdings die leider aufgetauchten „neueren" Namen überall erwähnt werden dürfen (z. B. *Brachyrrhinus* für *Otiorrhynchus*), womit aber nicht der endgültigen Einführung dieser Benennungen das Wort geredet werden soll. Wie sehr die ständigen Umbenennungen und Umgraduierungen systematischer Einheiten auch den Bearbeitern des vorliegenden Werkes ihre Arbeit erschwerte, läßt sich in einzelnen Abschnitten unschwer erkennen (z. B. *Ophonus — Pseudophonus*!).

Wie bereits früher ist für die wichtigsten und auch viele weniger wichtige Arten eine Lebensbeschreibung unter Berücksichtigung klimatischer und sonstiger Verhältnisse gegeben werden. Daß diese vielfach erweitert wurden, ist nur zu begrüßen.

Nicht ganz so günstig kann insbesondere der Praktiker die Behandlung der Bekämpfungsmöglichkeiten beurteilen. Freilich ist dieses Thema bei den einzelnen Familien und niederen systematischen Einheiten unterschiedlich bearbeitet worden, wobei sich der Abstand, den der einzelne Bearbeiter von der Praxis hat, widerspiegelt. So kann es nicht ausbleiben, daß in manchen — leider auch in manchen wichtigen — Fällen der Abschnitt: Bekämpfung inhaltlich enttäuscht. Es muß dabei aber wohl bedacht werden, daß nicht jeder Bearbeiter eine gut ausgerüstete Bibliothek zur Verfügung gehabt haben mag. Und es ist auch wohl so, daß in manchen — leider auch in manchen wichtigen — Fällen der Abschnitt: Bekämpfung Werkes eine etwas zu weite Zeitspanne gelegen haben mag. Immerhin können diese Dinge nicht allein ausschlaggebend für die Behandlung dieses Stoffes gewesen sein.

Der Umfang des Werkes hat sich u. a. auch dadurch erweitert, daß die meisten Bearbeiter mehr oder weniger umfängliche Listen von tierischen und anderen Feinden der genannten Schädlinge aufführen. Dies ist zweifellos ein Vorteil, wenn der Spezialist hierüber eine Übersicht erhält, und so ist es nur zu begrüßen, daß diese Dinge erwähnt werden. Nicht zu begrüßen ist es, daß gelegentlich der Eindruck entsteht, als ob diese Feinde von ausschlaggebender Bedeutung für den Massenwechsel der betreffenden Art seien. Wertvoller

*) *Bezieher, die sich zur Abnahme aller fünf Lieferungen des V. Bandes verpflichten, erhalten auf den angegebenen Preis einen Nachlaß von 10 %.* *Der Verlag*

ist schon der Hinweis auf hygienische Maßnahmen, die bei einer Reihe von wichtigen Schädlingen ausführlich, wenn auch nicht immer kritisch, behandelt wurden. Hier wären Hinweise auf offene Fragen vielleicht zweckmäßig gewesen.

Weniger zweckmäßig ist die oft reichlich ausführliche Behandlung mechanischer Maßnahmen. Noch immer erscheinen „Abklopfen" und der berühmte „Geflügeleintrieb". Aber auch andere genannte mechanische Maßnahmen verdienen nicht die erhaltene ausführliche Behandlung — eine kurze Erwähnung hätte genügt —, zumal abgesehen von ihrer oft fraglichen Wirksamkeit schon heute ihre Wirtschaftlichkeit (hohe Arbeitslöhne! Arbeitermangel!) nicht mehr gewährleistet sein wird.

Die Behandlung der chemischen Bekämpfungsmaßnahmen ist in einigen Abschnitten erschöpfend oder ausreichend dargestellt worden. In anderen Abschnitten ist der neueste Stand der Erkenntnisse nicht ganz erreicht worden. Die in einzelnen Abschnitten besonders eindringlich herausgestellte Warnung vor einem „Zuviel" kann durchaus zweckmäßig sein. Andererseits kann eine chemische Bekämpfung nicht entbehrt werden, vor allem nicht bei nicht periodisch auftretenden Schädlingen. Auch dem Gegner der „chemischen Bekämpfung" schlechthin müßte — schon in „eigenem Interesse" — daran gelegen sein, Fehler in der Anwendung der von ihm nicht gut geheißenen Methode zu verhüten, da nur so die von ihm befürchteten Schäden herabgedrückt werden können.

Trotz dieser notwendigen Feststellungen, die vielleicht dereinst Berücksichtigung finden können, ist dem Werk weitere Verbreitung zu wünschen, nicht zuletzt auch im Interesse des Verlages, der seinerseits bestrebt gewesen ist, das Werk so gut wie möglich auszustatten.

E. Gersdorf

# Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft / Berlin - Dahlem

Herausgegeben
im Auftrage des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten,
Referat Pflanzenschutz, von der Biologischen Bundesanstalt, Berlin-Dahlem

Heft 75 **Pflanzenschutztagung**
der Biologischen Bundesanstalt in Münster (Westf.), 6. bis 10. Okt. 1952.
*1953. 250 S. m. 56 Abb., kart. DM 26,—*

Heft 76 **Bericht über die in den Jahren 1950 und 1951 gemeinsam mit den Pflanzenschutzämtern in Nordwestdeutschland durchgeführten Blattlauszählungen.**
Von Dr. J. VÖLK.
*1953. 32 S. m. 8 Abb., kart. DM 4,—*

Heft 77 **Vergleichende Untersuchungen über die herbizide Wirkung der synthetischen Wuchsstoffe 2,4-D und MCPA.**
Von O. SCHMIDT.
*1954. 119 S. m. 52 Abb., kart. DM 10,50*

Heft 78 **Monographie der mitteleuropäischen Callaphididae (Zierläuse [Homoptera, Aphidina]) unter besonderer Berücksichtigung des ersten Jugendstadiums.**
I. Die Junglarven des ersten Stadiums der mitteleuropäischen Callaphididae.
Von W. QUEDNAU.
*1954. 52 S. und 9 Tafeln, mit 4 Abb. und 2 Tabellen, kart. DM 5,20*

Heft 79 **Die Vergilbungskrankheit der Rübe.**
Zusammenfassender Bericht über die in den Jahren 1947—1952 in Westdeutschland durchgeführten Untersuchungen zur Epidemiologie, Verbreitung, wirtschaftlichen Bedeutung und Bekämpfung der Virose.
Von Dr. W. STEUDEL und Dr. A. HELLING.
*1954. 132 S. m. 26 Abb. und 55 Tabellen, kart. DM 11,—.*

Die »Mitteilungen« setzen die wissenschaftliche Tradition der früheren Biologischen Reichsanstalt fort. Sie informieren die Land- und Forstwirtschaft, den Garten-, Obst- und Weinbau über die Forschungsergebnisse der Wissenschaft und geben der weitverzweigten Industrie der Pflanzenschutzmittel wertvolle Anregungen.

Abonnenten erhalten einen Nachlaß von 10 %.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Auslieferung: Berlin SW 68 (Westberlin), Lindenstraße 44—47

*Jetzt liegt komplett vor:*

# HANDBUCH DER LANDWIRTSCHAFT

In fünf Bänden

Unter Mitwirkung von 57 Wissenschaftlern
herausgegeben von den Professoren

| Th. ROEMER | A. SCHEIBE | J. SCHMIDT | E. WOERMANN |
|---|---|---|---|
| Halle/S. | Gießen | Hohenheim | Göttingen |

I. Band: **Ackerbaulehre**
654 Seiten mit 130 Textabbildungen

II. Band: **Pflanzenbaulehre**
794 Seiten mit 184 Textabbildungen

III. Band: **Allgemeine Tierzuchtlehre**
443 Seiten mit 82 Textabbildungen

IV. Band: **Besondere Tierzuchtlehre**
548 Seiten mit 245 Textabbildungen

V. Band: **Wirtschaftslehre des Landbaues**
792 Seiten mit 34 Textabbildungen

*Ladenpreis:* *In Ganzleinen DM 296,—*
*Bei Ratenzahlung:* *In Ganzleinen DM 325,—*

*Einzelne Bände des Werkes werden nicht abgegeben*

Das „Handbuch der Landwirtschaft" ist das umfassendste deutsche Werk der Landwirtschaft, das in der Qualität seines Inhalts und seiner erstklassigen Ausstattung nicht seinesgleichen hat. Es gibt eine vollständige, allgemeinverständlich gehaltene, systematische Einführung zur erfolgreichen Führung eines landwirtschaftlichen Betriebes, die auf den neuesten wissenschaftlichen Forschungen und praktischen Erfahrungen des In- und Auslandes beruht.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47 (West-Berlin), Tel. 61 44 68/69. Herausgeber Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner, (20 b) Braunschweig, Humboldtstraße 1, Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2 und Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36 (West-Berlin). Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 6 bis 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).